Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale,, n. 123 del 28 maggio 1994 - Serie generale

Spedizione in abbonamento postale (50%) - Roma

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA **Roma - Sabato, 28 maggio 1994** SI PUBBLICA TUTTI I GIORNI NON FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DI GRAZIA E GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE LEGGI E DECRETI - VIA ARENULA 70 - 00100 ROMA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - LIBRERIA DELLO STATO - PIAZZA G. VERDI 10 - 00100 ROMA - CENTRALINO 85081

N. 82

MINISTERO DELLE RISORSE
AGRICOLE, ALIMENTARI E FORESTALI

DECRETO MINISTERIALE 13 aprile 1994.

Approvazione dei «Metodi di analisi per il controllo ufficiale degli alimenti per animali» - Supplemento n. 11.

SOMMARIO

MINISTERO DELLE RISORSE AGRICOLE, ALIMENTARI E FORESTALI

DECRETO MINISTERIALE 13 aprile 1994. — *Approvazione dei «Metodi di analisi per il controllo ufficiale degli alimenti per animali» - Supplemento n. 11*:

ALLEGATO

DECRETI, DELIBERE E ORDINANZE MINISTERIALI

MINISTERO DELLA RISORSE AGRICOLE, ALIMENTARI E FORESTALI

DECRETO 13 aprile 1994.

Approvazione dei «Metodi di analisi per il controllo ufficiale degli alimenti per animali» - Supplemento n. 11.

IL MINISTERO DELLE RISORSE AGRICOLE, ALIMENTAR E FORESTALI

DI CONCERTO CON

IL MINISTERO DELLE FINANZE

IL MINISTERO DELLA SANITÀ

IL MINISTERO DELL'INDUSTRIA, COMMERCIO E ARTIGIANATO

Visto il decreto legislativo 3 febbraio 1993, n. 29, concernente norme per la razionalizzazione dell'organizzazione delle amministrazioni pubbliche e revisione della disciplina in materia di pubblico impiego, a norma dell'art. 2 della legge 23 ottobre 1992, n. 421;

Visti l'art. 43 del regio decreto-legge 15 ottobre 1925, n. 2033, convertito nella legge 18 marzo 1926, n. 562, riguardante la repressione delle frodi nella preparazione e nel commercio di sostanze di uso agrario e di prodotti agricoli, e l'art. 108 del regolamento per l'esecuzione dello stesso regio decreto-legge, approvato con regio decreto 1° luglio 1926, n. 1361, i quali prescrivono che le analisi occorrenti in applicazione delle norme contenute nel regio decreto-legge e nel regolamento di esecuzione suddetti dovranno essere eseguite dai lavoratori incaricati con i metodi di analisi prescritti da questo Ministero, di concerto con il Ministero delle finanze, il Ministero della sanità ed il Ministero dell'industria, del commercio e dell'artigianato;

Visto il decreto ministeriale 9 novembre 1971, nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana n. 308 del 6 dicembre 1971, con il quale sono stati approvati i «Metodi ufficiali di analisi degli alimenti per uso zootecnico», modificato ed integrato da ultimo con decreto ministeriale 22 luglio 1985 - Supplemento n. 8;

Ritenuto necessario aggiornare i metodi di analisi macro e microscopica approvati con il succitato decreto ministeriale 9 novembre 1971;

Sentito il parere della commissione per l'aggiornamento periodico dei metodi ufficiali di analisi per i prodotti agrari e le sostanze di uso agrario — sottocommissione per i mangimi — di cui al decreto ministeriale 11 febbraio 1981 e successive modificazioni;

Visto l'art. 2 della legge 4 dicembre 1993, n. 491, che istituisce il Ministero delle risorse agricole, alimentari e forestali;

Decreta:

Art. 1.

1. Sono approvati i «Metodi di analisi per il controllo ufficiale degli alimenti per animali» descritti nel supplemento n. 11, allegato al presente decreto.

Art. 2.

1. È abrogata la parte II: analisi macro e microscopica, descritta nei «Metodi ufficiali di analisi degli alimenti per uso zootecnico» di cui al decreto ministeriale 9 novembre 1971, citato nelle premesse.

Art. 3.

1. I metodi di cui all'art. 1 entrano in vigore il giorno successivo a quello di pubblicazione del presente decreto nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

2. I metodi sopracitati sono applicabili al controllo dei prodotti nazionali.

Art. 4.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, 13 aprile 1994

L'ispettore generale capo per la repressione delle frodi del Ministero delle risorse agricole, alimentari e forestali
GRIMALDI

Il direttore centrale del dipartimento delle dogane e imposte indirette del Ministero delle finanze
FAVALE

Il direttore generale dei servizi veterinari del Ministero della sanità
MARABELLI

Il direttore generale della produzione industriale del Ministero dell'industria, del commercio e dell'artigianato
AMMASSARI

ALLEGATO

METODI DI ANALISI PER IL CONTROLLO UFFICIALE DEGLI ALIMENTI PER ANIMALI

Supplemento n. 11

Metodi di analisi microscopica

PREMESSA

1. Gli ingredienti solidi utilizzati nella produzione dei mangimi, raramente riconoscibili all'esame macroscopico in quanto costituiti da materiali frantumati o da polveri fini, possono essere identificati al microscopio: gli ingredienti di origine vegetale/animale, in base ai caratteri fisico-morfologici esterni dei frammenti che li costituiscono e in base alle strutture istologiche interne che differenziano le specie vegetali e i tessuti animali; i composti chimici in base ai caratteri esterni e alle proprietà ottiche dei cristalli, oppure in base alla combinazione della microscopia con tecniche di microchimica qualitativa adattate per l'osservazione microscopica.
Nel controllo di qualità degli alimenti zootecnici, la microscopia costituisce pertanto: 1) una tecnica essenziale per stabilire l'identità dei mangimi semplici e la composizione delle miscele, in termini di ingredienti vegetali e animali; per rilevare materiali estranei, miscelazioni abusive, parti di piante tossiche; differenziare i materiali naturali dai loro derivati; identificare le tecnologie di produzione degli ingredienti; 2) una tecnica ausiliare di identificazione rapida di alcuni prodotti minerali e di alcuni composti organici.

La microscopia è inoltre utile per accertare le condizioni igieniche e lo stato di conservazione degli alimenti, attraverso la ricerca e identificazione di parassiti e di microrganismi dannosi.

Generalmente utilizzata per ricerche qualitative, la microscopia può essere applicata per valutazioni quantitative di materiali estranei solidi e dei componenti solidi delle miscele.

2. L'esposizione delle metodiche di analisi è suddivisa in due parti:

- Parte I, relativa alle tecniche analitiche

- Parte II, descrittiva dei caratteri e delle strutture degli ingredienti.

PARTE I

TECNICHE ANALITICHE

L'esposizione delle tecniche analitiche è articolata secondo i seguenti criteri:

1. Microscopi

2. Tecniche microscopiche generali

3. Attrezzature

4. Reagenti

5. Prelevamento del campione di lavoro

6. Esame preliminare

7. Preparazione del campione di analisi

8. Analisi allo stereomicroscopio

9. Analisi al microscopio composto

lo. Analisi chimico-microscopica

11. Analisi in fluorescenza

12. Identificazione delle muffe

13. Analisi quantitativa

1 MICROSCOPI

1.1 Nell'analisi di routine, sono utilizzabili due tipi di microscopio ottico:
1) stereomicroscopio, a luce incidente, che produce una immagine spaziale dei frammenti ingrandita fino a 50-100 volte. E' utile per gli esami preliminari delle caratteristiche merceologiche generali dei prodotti, per l'osservazione dei caratteri esterni dei frammenti e per le valutazioni quantitative;
2) microscopio composto, a luce trasmessa, che consente di osservare le strutture per trasparenza: le immagini, ingrandite fino a 1000 volte, assumono rilievo per assorbimento differenziale della luce in funzione delle diverse densità delle strutture. E' utile per esaminare le strutture interne delle particelle.

1.2 Per ricerche particolari, entrambi i microscopi possono essere temporaneamente convertiti in microscopi in fluorescenza.

2 TECNICHE MICROSCOPICHE GENERALI

2.1 Le tecniche sono basate in generale sul riconoscimento visivo dei frammenti/strutture degli ingredienti e sulla stima di tali frammenti/strutture nel complesso del mangime; per i composti chimici, sono basate in parte sul riconoscimento visivo dei cristalli e in parte su saggi microchimici di identificazione di ioni o di complessi.
Una serie di fattori oggettivi può ostacolare l'applicazione delle tecniche di riconoscimento, per esempio: la variabilità nelle dimensioni dei frammenti, che possono oscillare da alcuni millimetri a pochi micron di diametro; la presenza di materiali fini, anche di disgregazione, che ricoprono i frammenti più larghi rendendoli talvolta irriconoscibili; l'aggiunta di sostanze leganti, di grassi o sciroppi, che interferiscono sulle immagini microscopiche; le piccole quantità con cui alcuni materiali sono introdotti nelle miscele; la presenza di strutture poco trasparenti, nelle quali non sono percepibili i dettagli di identificazione; la disomogeneità e variabilità delle miscele e la complessità di alcune di esse, ecc.
In tali condizioni, l'analisi è facilitata da tecniche ausiliari, quali: 1) frazionamento/separazione/concentrazione di ingredienti, 2) rimozione di sostanze interferenti, 3) chiarificazione di tessuti, 4) messa in risalto di strutture/proprietà ottiche, per mezzo di colorazioni differenziali/dispositivi ottici addizionali.

2.2 Il procedimento di analisi qualitativa comporta: 1) l'osservazione allo stereomicroscopio del campione allo stato originario e l'esame dei materiali grossolani; 2) l'esame dei materiali fini al microscopio composto; 3) con entrambi gli strumenti, l'applicazione di saggi di microchimica e ricerche in luce fluorescente.

2.3 Le valutazioni quantitative possono essere ottenute, con l'ausilio di entrambi i microscopi, per mezzo di tecniche anche integrabili tra di loro: 1) estrazione e pesata di frammenti; 2) conta/stima visiva di frammenti.

3 ATTREZZATURE

3.1 Microscopio binoculare stereoscopico, con oculari grandangolari
Facoltativo: dispositivo per fluorescenza in luce UV
3.2 Microscopio binoculare composto con: oculari grandangolari, obiettivi 4x-10x-25x-40x-60x, tavolino traslatore, accessori per illuminazione in contrasto di fase e in luce polarizzata, micrometro oggetto
Facoltativo: dispositivo per fluorescenza con filtri di eccitazione nell'UV e nel blu-violetto
3.3 Cappa
3.4 Bilancia tecnica
3.5 Bilancia analitica
3.6 Divisore in quarti
3.7 Mortaio
3.8 Macinello elettrico
3.9 Stufa 0-100 °C
3.10 Microtomo (facoltativo)
3.11 Bagno termostatico (facoltativo)
3.12 Serie di setacci a maglie di diametro 3-2-1.5-1-0.5-0.2 mm, più raccoglitore e coperchio
3.13 Setacciatore automatico a secco e umido (facoltativo)
3.14 Autoclave (facoltativo)
3.15 Imbuti separatori da 500 ml con foro ϕ 7 mm
3.16 Scatole Petri ϕ 9 e 12 cm
3.17 Capsule con becco: di plastica (capacità 100 ml); di porcellana (capacità 250-750 ml) con fondo arrotondato
3.18 Filtri a pieghe, carta rapida, ϕ 24 cm
3.19 Filtri Whatman n.3
3.20 Pinze da microscopia a punta curva, aghi da microscopia, ago di platino, bisturi, vetrini portaoggetto, vetrini coprioggetto (24x32mm), spatole, microspatole, lastra di vetro, Bunsen, siringhe, garze, comune vetreria da laboratorio
3.21 Collezione di ingredienti

4 REAGENTI

I reagenti, per comodità di consultazione, sono elencati nei rispettivi capitoli in cui ne è previsto l'uso.
Le soluzioni, ove non altrimenti indicato, si intendono in acqua distillata.

5 PRELEVAMENTO DEL CAMPIONE DI LAVORO

Il campione destinato all'analisi microscopica deve poter essere esaminato nelle sue condizioni originali. Pertanto è opportuno disporre di un esemplare a parte, il quale non dovrà essere macinato nè omogeneizzato prima dell'analisi microscopica. Non disponendo di tale esemplare, si preleverà una quota del campione prima di destinarlo ad altre analisi.
Formare il campione rappresentativo di lavoro procedendo nel seguente modo:

a) mangimi secchi: con il dispositivo di divisione in quarti (3.6), ridurre il campione a circa 100 g, dai quali si preleveranno le aliquote di analisi;

b) mangimi umidi in scatola: versare il contenuto di una o più scatole in mortaio (3.7), pestare leggermente e mescolare accuratamente. Versare il tutto su una superficie liscia, disperdendo il prodotto in uno strato circolare di 1-2 cm di spessore. Con l'aiuto di una lama suddividere lo strato in quarti, riducendolo a circa 100 g, dai quali si preleveranno le aliquote di analisi.

c) mangimi umidi con elevate quantità di parti fluide: per mezzo di setaccio (3.12) a maglie larghe, separare le parti solide sulle quali si opererà come indicato al punto b); raccogliere a parte il liquido, che potrà essere esaminato direttamente al microscopio composto.

6 ESAME PRELIMINARE

6.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di accertare le caratteristiche merceologiche/tecnologiche/organolettiche e le condizioni di conservazione dei mangimi semplici e composti.
Per l'accertamento dello stato di conservazione il campione sarà esaminato nel più breve tempo possibile dal momento del prelievo; in alternativa, sarà conservato chiuso in frigorifero in attesa dell'analisi.

6.2 Principio

Una aliquota di campione viene esaminata al microscopio stereoscopico nelle sue condizioni originarie all'atto del prelievo.

6.3 Procedimento

6.3.1
a) Mangimi sfarinati: trasferire in scatola Petri (3.16) 10 g circa di campione ed esaminare allo stereomicroscopio a 5-20x;

rimuovendo il materiale con le pinze, osservare aspetto e tessitura del prodotto nel suo complesso e ricercare anomalie nei caratteri fisici e/o segni di infestazioni o contaminazioni.
b) Mangimi pellettati: triturare leggermente in mortaio 10 g di campione e procedere come in a).

6.4 Valutazioni

6.4.1. Caratteristiche merceologiche/tecnologiche

Facendo anche riferimento alle denominazioni e descrizioni degli ingredienti indicate nella normativa, si potrà:
- differenziare i materiali grezzi dai derivati
- identificare le tecnologie di produzione
- valutare se le caratteristiche corrispondono alle indicazioni fornite dal produttore
- stabilire l'identità di alcuni mangimi semplici a granulometria grossolana omogenea, privi di consistenti quantità di parti fini (es. grani di cereali spezzati, farina di estrazione di soia, crusche ecc.)

6.4.2. Caratteri organolettici

Sono indici di alterazioni:
- colorazioni brune o nere dei frammenti, causate da surriscaldamento o carbonizzazione, in particolare nei prodotti che hanno subito trattamenti termici (farine di carne e di pesce, prodotti lattieri, vegetali disidratati, residui dell'estrazione degli oli, ecc.);
- odore di ammoniaca, di idrogeno solforato, di rancido, di muffa.

6.4.3 Stato di conservazione

Sono indici di contaminazioni:
- presenza di parassiti animali vivi o di loro larve, uova, spoglie, secreti o escreti: Coleotteri (*Sitophilus, Tribolium, Calandra, Oryzaephilus, Rhizoperta, Trogoderma, Tenebrioides* ecc.); Lepidotteri (*Ephestia, Sitotroga, Tinea* ecc.); Acari(*Tyroglyphus*);
- presenza di peli e detriti organici di Roditori;
- presenza di grumi feltrosi variamente colorati, costituiti da miceli di muffe (prevalentemente Deuteromiceti, comprendenti varie specie dei generi *Aspergillus, Fusarium, Penicillium, Trichotecium* ecc., alcune delle quali potenzialmente tossigene) (v. anche Cap.11).

Nota. Per ulteriori e più dettagliate informazioni sugli agenti infestanti v. anche i Riferimenti bibliografici (6) e (10).

7 PREPARAZIONE DEL CAMPIONE DI ANALISI

7.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di offrire all'osservazione microscopica particelle isolate, di dimensioni il più possibile omogenee, e con superfici il più possibile ripulite da materiali fini aderenti o da sostanze leganti.
Si applica sia ai mangimi semplici, nei quali facilita la ricerca di materiali estranei, sia alle miscele, nelle quali produce una approssimativa ripartizione degli ingredienti, utile anche ai fini di eventuali stime quantitative.

7.2 Principio

L'aliquota di analisi viene posta in sospensione in tetracloruro di carbonio, solvente a densità intermedia (1.59) tra quelle dei prodotti organici (1.2-1.5) e inorganici (>2.0).
Si separano due fasi:
1) una fase surnatante, nella quale confluiscono i materiali di origine biologica e i composti chimici di natura organica;
2) un sedimento, nel quale vengono concentrati i tessuti animali calcificati, i prodotti inorganici e, per l'elevata densità (1.72), la vitamina C.
Ognuna delle due fasi viene suddivisa mediante setacciatura in più frazioni granulometriche che saranno esaminate singolarmente al microscopio.
I mangimi pellettati, melassati, grassati o umidi sono dapprima trattati con acqua o etere, allo scopo di allontanare le sostanze che interferiscono sulle immagini microscopiche e di ripristinare le condizioni originarie delle particelle costituenti.

7.3 Reagenti

7.3.1 Tetracloruro di carbonio
7.3.2 Cloroformio
7.3.3 Acetone
7.3.4 Etere etilico

7.4 Procedimenti

7.4.1 Mangimi sfarinati e premiscele degli integratori

7.4.1.1 Trasferire 10 g di campione in imbuto separatore (3.15), aggiungere 200 ml di tetracloruro di carbonio (7.3.1), mescolare e lasciare in riposo per non oltre 5 minuti, durante i quali i materiali organici salgono alla superficie del solvente, e quelli inorganici sedimentano.

In alternativa, si potrà utilizzare cloroformio (7.3.2), benché la separazione risulti meno netta (nel sedimento confluiscono, tra l'altro, i cristalli degli zuccheri e parte degli amidi).
Raccogliere il sedimento in capsula da 100 ml (3.17), lasciare in riposo qualche minuto, decantare l'eventuale liquido eccedente e fare evaporare all'aria il solvente residuo.
Trasferire il surnatante su filtro a pieghe (3.18) lavando le pareti dell'imbuto con altro solvente e fare evaporare all'aria il solvente residuo.
Raccogliere separatamente le due fasi asciutte.
Nota. Il solvente può essere recuperato, filtrato, eventualmente distillato, e riutilizzato più volte.
7.4.1.2 Predisporre una serie di setacci (3.12-3.13), completa di raccoglitore e coperchio, in ordine decrescente di diametro delle maglie.
Orientativamente, in funzione della granulometria, predisporre:
- per prodotti molto grossolani, una serie 2.0-1.5-1.0-(0.5) mm;
- per prodotti medi, una serie 1.5-1.0-0.5-(0.2) mm;
- per prodotti fini e per il sedimento, il setaccio 0.5 (0.2) mm.
Setacciare le due fasi separatamente per 2-3 minuti o più, secondo la scorrevolezza del prodotto, e trasferire le singole frazioni ricavate in scatole Petri (3.16) per l'esame microscopico.
Nota. I calibri indicati entro parentesi sono facoltativi e il loro inserimento nella serie dipende dalla quantità e finezza dei componenti fini del prodotto nel suo complesso.

7.4.2 Mangimi pellettati, granulati, in croste ecc., e loro miscele con sfarinati. Mangimi melassati (> 15% di melasso).

7.4.2.1 Trasferire 10 g di campione in bicchiere da 500 ml e aggiungere 400 ml di acqua calda a 60°C.
Rimescolando di tanto in tanto, lasciare nell'acqua: per 2-12 ore, secondo la durezza, i prodotti pellettati; per 30 minuti i prodotti melassati.
7.4.2.2 Trasferire la miscela su setaccio 0.2 mm e procedere al lavaggio del residuo nel setacciatore automatico (3.13) predisposto per setacciatura a umido oppure, in alternativa, sotto un abbondante e forte getto di acqua corrente.
Trasferire il residuo su filtro a pieghe, lavare due volte con acetone (7.3.3) e fare asciugare in stufa (3.9) a 60°C per 4-6 ore, quindi all'aria per 2-3 ore.
Se nel residuo si sono formati grumi, triturare leggermente in mortaio (3.7).
Operare sul residuo secco come in 7.4.1.

Nota. Il lavaggio causa la perdita delle sostanze idrosolubili e di piccole quantità, generalmente irrilevanti ai fini dell'analisi qualitativa, di materiali fini.
Per ovviare, operare come in 7.4.1.1 su una seconda aliquota di campione triturata in mortaio, per separare la fase inorganica, che risulterà completa; setacciare la fase organica su setaccio 0.2 mm per ottenere nel raccoglitore il materiale fine perduto.

7.4.3 Mangimi umidi

Trasferire 15-20 g di campione (o 5-10 g della parte solida) in bicchiere da 500 ml, aggiungere 400 ml di acqua calda a 60°C. Rimescolando di tanto in tanto, lasciare nell'acqua per 30 minuti.
Procedere come in 7.4.2.2.

Nota. Il lavaggio può causare la perdita di piccole quantità di materiali fini, generalmente irrilevanti ai fini dell'analisi qualitativa.

7.4.4 Mangimi con alto tenore in grassi (> 10%)

Trasferire 10 g di campione in matraccio da 250 ml, aggiungere 200 ml di etere etilico (7.3.4), tappare.
Lasciare per 10 minuti, agitando e stappando di tanto in tanto.
Filtrare su filtro a pieghe e lasciare evaporare il solvente.
Operare sul residuo secco come in 7.4.1.
Se il mangime è anche granulato, triturare prima leggermente in mortaio.

7.4.5. Prodotti lattieri e mangimi di allattamento

Procedere come in 7.4.1, utilizzando preferibilmente come liquido di sedimentazione il cloroformio (7.3.2), allo scopo di concentrare nel sedimento eventuali cristalli di lattosio.
Se il prodotto contiene un'alta percentuale di grassi, operare prima come descritto in 7.4.4.

7.4.6. Mangimi costituiti da semi interi

Trasferire in scatola Petri:
- 25 g di campione per semi di cereali e altri semi di dimensioni simili e per le miscele che li contengono;
- 10 g per semi di dimensioni inferiori.

7.5 **Localizzazione dei materiali nelle varie frazioni**

In conseguenza delle operazioni di preparazione, i materiali risulteranno orientativamente localizzati nelle varie frazioni nel seguente modo:

A - Fase organica

1) Frazioni grossolane (particelle > 1.5 mm)
Frutti/semi interi e/o spezzati; la maggior parte di: crusche, fiocchi, germi, cotiledoni di soia, steli, glume, radichette di orzo, lolla di riso, tegumenti duri dei semi di cotone, di gira-

sole, di arachidi, di palme ecc., noccioli, polpe di barbabietola, gusci di carrube; gelatina, unghie, peli, rachidi e barbe spezzate di penne; sferette di urea; pellets di microrganismi, ecc.

2) Frazioni intermedie (particelle 1.5-0.5 mm)
La maggior parte di: cruschelli, tritelli, semole, pula di riso, lolla macinata, residui dell'estrazione dell'olio dai semi oleosi, borlande, erbe, vinaccioli; grumi di carne, di pesce e di penne, sangue secco macinato; pellets di microrganismi; cristalli interi di saccarosio e di glucosio, microsfere di vitamina A, ecc.

3) Frazioni fini (particelle < 0.5 mm)
Farinette di cereali, glutini, amidi, fecole; fibre muscolari isolate di carne e di pesce, barbule di piume, sferette di sangue spray; polveri di lieviti, di batteri, di latte, di siero; cristallini di urea, di lattosio; altri composti organici microcristallini o in polveri (vitamine, antibiotici, ecc).

B - Sedimento

1) Frazione grossolana (particelle > 0.5 mm)
La maggior parte di: ossa, scaglie di pesci, gusci di crostacei e di molluschi; rocce triturate, sabbia grossolana; cristalli interi di sali minerali (cloruro di sodio, solfati di rame, di magnesio ecc.)

2) Frazione fine (particelle <0.5 mm)
Ossa polverizzate; cristallini e/o polveri di sali inorganici, vitamina C, farine fossili, bentonite e altre argille, sabbia fine ecc.

8 ANALISI ALLO STEREOMICROSCOPIO

8.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di identificare i materiali grossolani (> 0.5 mm di diametro) costituenti i mangimi e i supporti degli integratori. Può essere estesa ai materiali fini.

8.2 Principio

Consiste nell'esaminare a basso ingrandimento i caratteri fisico-morfologici esterni dei frammenti dei materiali da identificare e nel porli in correlazione con materiale noto.

8.3 Reagenti

8.3.1 Soluzione di Lugol diluita 20%
8.3.2 Soluzione di Floroglucina cloridrica (Sciogliere 5 g di Floroglucina in 20 ml di etanolo 95°)

8.4 Procedimento

8.4.1 Disperdere in strato sottile, sul fondo delle rispettive scatole Petri, le singole frazioni organiche ricavate come descritto al cap. 7.
Osservare al microscopio (3.1), utilizzando come sfondo il lato nero o il lato bianco del piattello, secondo il contrasto visivo che risulti di volta in volta più opportuno.
Iniziare l'esame, con l'ingrandimento più basso, dalla frazione organica contenente i frammenti più grandi e proseguire con le altre frazioni, aumentando opportunamente l'ingrandimento.
Eseguire osservazioni incrociate partendo da un margine della scatola verso il centro e proseguendo verso il margine opposto.
Rimuovere con le pinze i frammenti, osservarne aspetto, forma, colore, e saggiarne la consistenza.
Allontanare le particelle esaminate da quelle ancora da esaminare, e continuare finché tutto il materiale sia stato osservato o si siano rintracciati i prodotti da individuare.
8.4.2 **Esaminare con la medesima tecnica le frazioni del sedimento.**
8.4.3 Estrarre con le pinze i frammenti non identificati, da sottoporre agli ulteriori opportuni esami.

8.5 Tecniche speciali

8.5.1 Per prodotti lattieri

Nei mangimi sfarinati, piccole quantità di polveri di latte/siero possono sfuggire all'osservazione. Nei mangimi in pellet i prodotti lattieri non sono visibili.
Una tecnica di rilevamento consiste in uno dei seguenti procedimenti:

1) Mangimi sfarinati
Disperdere uniformemente in strato sottile sul fondo di una scatola Petri una piccola aliquota della frazione organica fine, aggiungere alcune gocce di acqua, osservando contemporaneamente a 10-20x su fondo nero. La presenza di latte o siero in polvere è indicata dalla formazione di scie e correnti lattiginose di dissoluzione, con origine nelle particelle lattee.
In alternativa, applicare il saggio di identificazione del lattosio (10.6.3.2) ad una aliquota di mangime.

2) Mangimi in pellet
Applicare il saggio di identificazione del lattosio (10.6.3.2) ad una aliquota di pellet macinato.

8.5.2 Per materiali proteici/amilacei

Le particelle medio-fini di alcuni prodotti proteici (es. semi di soia, glutini) hanno aspetto simile a quello dei frammenti di alcuni semi di natura amilacea (granoturco, riso, frumento duro, sorgo, alcuni legumi).
Per differenziarli rapidamente con una prova orientativa, disperdere in scatola Petri una aliquota di prodotto, aggiungere alcune gocce di soluzione di Lugol (8.3.1) e osservare a 10-20x su fondo bianco la colorazione assunta dai frammenti.
Colorazioni:
- frammenti proteici = bruno
- frammenti amilacei = blu scuro/nero

8.5.3 Per materiali lignificati

Possono essere aggiunti, talvolta finemente macinati, a scopo di sofisticazione: tutoli di mais, vinaccioli, lolla di riso, segatura di legno, noccioli ecc.
Per evidenziarli, disperdere in scatola Petri aliquote delle varie frazioni organiche, aggiungere alcune gocce di Floroglucina cloridrica (8.3.2) e osservare a 5-20x su fondo bianco la colorazione de frammenti.
Colorazioni:
- materiali legnosi = rosso viola, che persiste anche dopo diluizione del reagente con acqua
- materiali cellulosici = rosa intenso/rosso, che sbiadisce o svanisce per aggiunta di acqua.

8.5.4 Per composti chimici

Alcuni composti cristallini, non riconoscibili all'esame visivo sono identificabili con reazioni cromatiche o microchimiche, che possono essere seguite allo stereomicroscopio (v. Cap. 10).

8.5.5 Per stime quantitative

V. Cap. 13.

9 ANALISI AL MICROSCOPIO COMPOSTO

9.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di identificare i materiali fini (< 0.5 mm di diametro) costituenti i mangimi e i supporti degli integratori.
Nella routine può essere limitata ai prodotti a granulometria fine, ai componenti fini delle miscele, ai frammenti grossolani triturati non identificati allo stereomicroscopio, ai liquidi dei mangimi in scatola.

9.2 Principio

Consiste nell'esaminare, con ingrandimenti elevati, le strutture interne e le proprietà ottiche delle particelle da identificare, e nel porle in correlazione con strutture e proprietà note.

9.3 Reagenti

9.3.1 Dimetilsulfossido
9.3.2 Fenolo-glicerolo (13 g di fenolo cristallino in 87 ml di glicerolo anidro)
9.3.3 Soluzione di cloralio idrato 50%
9.3.4 Etanolo 95°
9.3.5 Soluzione di Lugol diluita al 5%
9.3.6 Clorojoduro di zinco (Sciogliere 50 g di cloruro di zinco e 16 g di joduro di potassio in 17 ml di acqua, aggiungere 3 g di Jodio cristallino e lasciare in riposo alcuni giorni. Trasferire il surnatante in bottiglia scura)
9.3.7 Floroglucina cloridrica (Sciogliere 5 g di Floroglucina in 20 ml di etanolo 95°)
9.3.8 Sodio idrato 50%
9.3.9 Soluzione di ferro solfato 1% in HCl 0.1N
9.3.10 Soluzione di Tionina 2% in etanolo 95°
9.3.11 Soluzione di Sudan III (Sciogliere 0.1 g di Sudan III in 50 ml di etanolo 95° bollente, aggiungere 50 ml di glicerolo)
9.3.12 Soluzione di Blu di metilene 0.1%
9.3.13 Soluzione di Rosso Congo 0.5%
9.3.14 Soluzione di Arancio acridina 0.1%
9.3.15 Acido nitrico concentrato
9.3.16 Acido acetico glaciale
9.3.17 Acqua ossigenata 10-12 vol.
9.3.18 Ammoniaca concentrata
9.3.19 Glicerina

9.4 Procedimenti

9.4.1 Tecnica di osservazione

Trasferire su vetrino portaoggetti 0.01 g circa (una punta di microspatola) di prodotto fine, oppure la polvere ricavata dai singoli frammenti non identificati allo stereomicroscopio, triturati in mortaio, oppure alcune gocce dei liquidi di cottura dei mangimi in scatola, secondo le circostanze.
Aggiungere 2-3 gocce di liquido montante (*), miscelare con ago da microscopia e coprire con coprioggetto, esercitando una leggera pressione con movimento rotatorio, per disgregare le particelle e ridurre al minimo lo spessore del preparato, evitando la formazione di bolle di aria.
Iniziare l'esame al microscopio (3.2) con l'ingrandimento più basso (40-100 x), per avere una prima visione di insieme, e aumentare gradualmente l'ingrandimento per esaminare i dettagli delle strutture.
Partendo dall'angolo sinistro del coprioggetto, per mezzo del traslatore fare scorrere il vetrino lateralmente osservando ogni campo del microscopio fino a raggiungere l'angolo destro; scendere di un campo e fare scorrere il vetrino in senso inverso fino al margine sinistro, scendere ancora di un campo e continuare con tale procedimento finché tutta l'area del coprioggetto sia stata esaminata o si siano rintracciate le strutture ricercate.
Durante l'osservazione, a causa di possibili differenze di spessore nelle particelle, sarà necessario focheggiare frequentemente il preparato.
Eventuali misurazioni saranno eseguite per mezzo del micrometro oggetto, seguendo le indicazioni fornite dalla ditta produttrice del microscopio.

(*) I liquidi montanti aumentano la trasparenza delle particelle, favoriscono la fuoruscita dei contenuti cellulari e consentono di meglio visualizzare l'organizzazione dei tessuti.
In funzione delle caratteristiche fisico-chimiche delle particelle in esame, utilizzare uno dei seguenti liquidi:
- acqua, di uso generale, e in particolare per particelle di $\phi < 0.2$ mm e per sostanze insolubili in acqua;
- dimetilsulfossido (9.3.1) o fenolo-glicerolo (9.3.2) o glicerina (9.3.19), per particelle di $\phi > 0.2$ mm, per sostanze solubili in acqua e per materiali calcificati;
- cloralio idrato (9.3.3) per strutture poco trasparenti.

9.4.2 Tecniche di illuminazione

1) In campo chiaro si osservano i caratteri morfologici delle strutture e gli effetti delle colorazioni istologiche.

2) In contrasto di fase si osservano i dettagli, indistinti in campo chiaro, di strutture delicate e trasparenti (cellule trasversali del pericarpo dei cereali, punteggiature sulle pareti cellulari, barbule di piume, scaglie di pesce, lieviti, batteri, miceli e spore fungine ecc.).

3) In luce polarizzata, a nicol incrociati, si osservano le proprietà ottiche, differenziando i materiali otticamente anisotropi, birifrangenti, dai materiali isotropi:

- I materiali birifrangenti
sul fondo buio del campo del microscopio appaiono illuminati, alcuni bianchi (monocromatici), altri colorati (pleocroici), e comprendono: tutti i tessuti vegetali; i granuli di amido; le mucillagini; i tessuti animali calcificati e quelli cornei; le fibre muscolari striate; i grassi solidificati; i cristallini naturali di ossalato di calcio nelle cellule vegetali; i microcristalli di guanina nei tessuti dei pesci; i cristalli dei sali minerali (escluso il cloruro di sodio) e in generale i cristalli di tutti i composti chimici.

- I materiali isotropi
sul fondo buio del campo del microscopio appaiono oscuri e indifferenziati, e comprendono: i materiali proteici (vegetali e animali); gli amidi gelatinizzati; le penne idrolizzate; i globuli di oli; il cloruro di sodio; miceli e spore fungine; chitina.

Nella pratica routinaria, l'osservazione in luce polarizzata costituisce una tecnica rapida per:
a) individuare materiali vegetali e cristallini nei prodotti di origine animale e nei prodotti lattieri; individuare il siero in polvere nelle farine di latte
b) evidenziare elementi strutturali diagnostici che differenziano alcune specie vegetali: strati tegumentali delle Leguminose, mucillagini in alcune Crucifere, tricomi delle erbe foraggere, cristalli di ossalato di calcio presenti con forme caratteristiche nella soia, nel sesamo, nei vinaccioli ecc.
c) verificare, dalla comparsa dell'isotropia, i trattamenti tecnologici subiti da alcuni prodotti naturalmente birifrangenti (amidi, penne)
d) differenziare i granuli di amido da altre strutture simili (granuli di aleurone, globuli di olio, bolle di aria, spore e conidi fungini ecc.)
e) differenziare amidi simili di specie diverse, verificando dettagli strutturali non sempre percepibili con altre tecniche di illuminazione.

9.5 Tecniche speciali

9.5.1 Colorazione

Per mettere in risalto alcune strutture biologiche e facilitarne l'identificazione, si può ricorrere a tecniche di colorazione con coloranti biologici che reagiscono selettivamente con i componenti naturali delle varie strutture.
I preparati sono allestiti con la tecnica descritta in 9.4.1, utilizzando come montante la soluzione del colorante adeguato.
I coloranti e i relativi contrasti visivi specifici delle strutture sono sintetizzati in Tabella 1.

Tabella 1. Colorazioni specifiche delle strutture biologiche

Colorante	Struttura	Colorazione
Soluzione di Lugol (9.3.5)	Materiali proteici vegetali e animali,lieviti, batteri	Bruno
	Tessuti animali cornei,connettivi, epiteliali, penne	Bruno chiaro/giallo
	Granuli di amido Amidi gelatinizzati	Blu/viola Azzurro
Cloroioduro di zinco (9.3.6)	Cellulosa	Azzurro
Floroglucina (9.3.7)	Lignina Cellulosa	Rosso porpora Rosa/rosso
Sodio idrato (9.3.8)	Tannini	Blu/viola
Ferro solfato (9.3.9)	Tannini	Verde-azzurro/nero
Tionina (9.3.10)	Mucillagini	Rosso
Sudan III (9.3.11)	Oli e grassi	Arancio
Blu di metilene (9.3.12)	Miceli e spore fungine	Azzurro
Arancio acridina (9.3.14)	Materiali proteici	Arancio
Rosso Congo (9.3.13)	Amidi danneggiati	Rosso

9.5.2 Concentrazione

Taluni tessuti resistenti (tessuti lignificati, tessuti connettivi, cuoio, penne ecc.), se finemente macinati e/o presenti in piccole quantità, possono essere concentrati.
Prelevare 1-2 g della frazione organica fine, oppure macinare 2-3 g di campione, e trasferire in capsula di porcellana da 250 ml (3.17). Aggiungere 20 ml di acido nitrico (9.3.15) e 20 ml di acido acetico (9.3.16). Portare a ebollizione moderata per 20-30 secondi, raffreddare, filtrare su carta rapida, lavare tre volte con acqua. Trasferire su vetrino una parte del residuo umido, aggiungere una goccia di acqua, coprire con coprioggetto ed esaminare al microscopio.
Il trattamento distrugge la maggior parte delle strutture delicate e consente una migliore visualizzazione dei dettagli istologici dei tessuti residui.

9.5.3 Chiarificazione

Le strutture poco trasparenti (tegumenti di frutti/semi, noccioli, strutture legnose ecc.), o divenute oscure per surriscaldamento, nelle quali non siano percepibili i dettagli di identificazione, possono essere chiarificate.
Isolare e triturare finemente in mortaio (3.7) i singoli frammenti e trasferire su vetrino la polvere ricavata. Applicarvi alcune gocce di acqua ossigenata (9.3.17) e dopo 2-3 minuti aggiungere una goccia di ammoniaca (9.3.18). Coprire con coprioggetto ed esaminare al microscopio.
In alternativa, macinare finemente 2-3 g di campione e trasferire in bicchiere da 50 ml con 20 ml di acqua ossigenata, miscelare e lasciare in riposo 15 minuti. Aggiungere 10 gocce di ammoniaca, agitare e lasciare in riposo 15 minuti. Filtrare su carta rapida, lavare una volta con acqua. Trasferire su vetrino una quota del residuo umido, aggiungere una goccia di acqua, coprire con coprioggetto, esaminare al microscopio.

9.5.4 Sezioni sottili

Occasionalmente può essere opportuno esaminare sezioni di tessuti di difficile identificazione (es. tegumenti di semi di Crucifere, di Leguminose ecc.).
Prelevare il seme o il frammento da identificare e immergerlo in acqua per almeno 1 ora. Trasferirlo quindi tra due blocchetti di sughero o di polistirene e sezionare con il microtomo (3.10), oppure, in alternativa, a mano con il bisturi. Trasferire la sezione su vetrino, aggiungere alcune gocce di acqua ossigenata (9.3.17), coprire con coprioggetto con leggera pressione, esaminare al microscopio.

9.5.6 Microscopia chimica

Alcuni composti chimici, non riconoscibili visivamente, possono essere identificati con tecniche di microscopia chimica i cui esiti possono essere controllati al microscopio composto (v. Cap. 10)

9.5.7 Stime quantitative

V. Cap. 13.

10 ANALISI CHIMICO-MICROSCOPICA

10.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di: 1) confermare il riconoscimento di alcuni prodotti chimici identificati visivamente allo stereomicroscopio; 2) identificare altri prodotti che, benché rilevabili nelle miscele e differenziabili dagli ingredienti di origine biologica per forma, colore, proprietà ottiche (isotropia, anisotropia, pleocroismo) dei cristalli, non sono riconoscibili all'esame visivo.
Si applica ai mangimi e alle premiscele allo stato secco.

10.2 Principio

Aliquote di campione sono sottoposte a saggi di microchimica qualitativa adattati per l'osservazione al microscopio, sia stereoscopico che composto.
I saggi comportano: 1) precipitazione di microcristalli di nuovi composti identificabili; 2) reazioni cromatiche specifiche, nelle quali il colore è assorbito da un supporto oppure è assunto dalle stesse particelle reattive o sviluppato da loro soluzioni.
Le reazioni sono sufficientemente caratteristiche, sensibili per quantità minime di materiali e percepibili anche per particelle di minime dimensioni, senza interferenze da parte di altri composti chimici aggiunti o di sostanze contenute naturalmente nei materiali di origine biologica.

10.3 Reagenti

<u>Per prodotti inorganici</u>

10.3.1 Argento nitrato 10%
10.3.2 Acido cloridrico 1:1
10.3.3 Ammonio molibdato:
a)- Soluzione I. A 15 ml di ammonio idrato aggiungere 27 ml di acqua e 10 g di anidride molibdica. Lasciare raffreddare.
Soluzione II. A 115 ml di acqua aggiungere 50 ml di acido nitrico concentrato. Lasciare raffreddare.
b)- Aggiungere lentamente, miscelando, la soluzione I alla soluzione II. Lasciare in riposo alcuni giorni, decantare e filtrare il liquido surnatante quando è limpido. Aggiungere a 100 ml del filtrato 10 ml di soluzione al 10% di ammonio nitrato.
(Conservare in bottiglia scura).
10.3.4 Brucina in polvere
10.3.5 Soluzione di Lantanio nitrato 5%
10.3.6 Soluzione di Jodio 0.1N
10.3.7 Ammoniaca 1N
10.3.8 Acido solforico concentrato

10.3.9 Reattivo di Millon
10.3.10 Reattivo di Nessler
10.3.11 Acido solforico 10%.
10.3.12 Soluzione satura di potassio antimoniato
10.3.13 Acido perclorico 70%

Per microelementi

10.3.14. Potassio prussiato (Sciogliere 1.7 g di potassio ferrocianuro e 0.4 g di potassio ferricianuro in 250 ml di acqua)
10.3.15 Soluzione di sodio-potassio tartrato 20%
10.3.16 Soluzione di Sale nitroso-R 4%
10.3.17 Carta-amido
10.3.18 Acido ipofosforoso
10.3.19 Acqua di bromo diluita
10.3.20 Sodio idrato 2N
10.3.21 Soluzione di Benzidina (Sciogliere 0.05 g di benzidina (o di cloridrato di benzidina) in 10 ml di acido acetico glaciale, portare a 100 ml con acqua, filtrare)
10.3.22 Soluzione di fosfato bipotassico 5%
10.3.23 Sodio idrato 20%
10.3.24 Acido citrico
10.3.25 Idrossilammina cloridrato
10.3.26 Soluzione di Dithizone (Sciogliere 10 mg di Dithizone in 100 ml di tetracloruro di carbonio)

Per composti organici

10.3.27 Ninidrina in polvere
10.3.28 Clinistick (Merck) per glucosio
10.3.29 Soluzione di cloruro di metilammonio 5%
10.3.30 Anthrone in polvere
10.3.31 Soluzione di cloruro stannoso e urea (Sciogliere a caldo 4 g di urea e 0.2 g di cloruro stannoso in 10 ml di acido solforico al 40%)
10.3.32 Soluzione di Rosso cresolo 0.1% (Fare bollire per qualche minuto 0.1 g di Rosso cresolo in 100 ml di acqua)
10.3.33 Ureasi in polvere microcristallina
10.3.34 Soluzione di Rosso cresolo e urea (Miscelare 80 ml di soluzione di Rosso cresolo 0.1% (10.3.32) con 20 ml di glicerolo e 2 g di urea)
10.3.35 Reattivo di Carr-Price (20 g di tricloruro di antimonio in 80 ml di cloroformio)
10.3.36 Acido selenioso 5%
10.3.37 Reattivo di Sakaguchi (Sciogliere 1 g di acido borico cristallino in 100 ml di acido solforico concentrato. Conservare in frigorifero)
10.3.38 Cartina al tornasole rosso

Nota. Per i saggi che richiedono supporto di carta da filtro utilizzare dischi di carta Wathman n.3 (3.19)

10.4 Preparazione del campione

Si può operare su aliquote delle frazioni del campione preparato come descritto nel paragrafo 7.4.1, utilizzando: 1) il sedimento per la ricerca di prodotti inorganici; 2) le frazioni della fase surnatante per la ricerca di composti chimici organici.
Per i mangimi in pellet, è più opportuno macinare 10 g di campione e operare direttamente su aliquote della polvere ricavata, senza procedere a frazionamenti.

10.5 Procedimenti per prodotti inorganici

10.5.1 Premessa

I prodotti inorganici utilizzati nella produzione dei mangimi possono essere costituiti da: 1) tessuti biologici calcificati; 2) derivati della macinazione di prodotti inorganici naturali; 3) cristalli interi o frantumati di sali minerali.
L'analisi è basata sulla identificazione dei gruppi anionici e sulla ricerca sistematica dei cationi ad essi riferibili. Può essere effettuata, in funzione delle dimensioni delle particelle, su cristalli o frammenti singoli oppure su aliquote di materiali fini, anche misti, con una delle seguenti tecniche:

a) Per cristalli isolabili
Il cristallo, o frammento, viene estratto dal sedimento e frantumato in più parti, oppure triturato leggermente in mortaio (se è troppo piccolo per ulteriori suddivisioni si estrarranno più esemplari di aspetto simile). I frammenti ricavati sono utilizzati singolarmente per l'identificazione dell'anione/catione;

b) Per particelle non isolabili
Si prelevano piccole aliquote di sedimento fine, o di materiale polverizzato, da saggiare separatamente sino ad ottenere l'identificazione dei possibili anioni/cationi in esso presenti.

10.5.2 Anioni

10.5.2.1 Acetati, Cloruri, Fosfati mono e bibasici, Solfati

Reagente: Argento nitrato (10.3.1)
Procedimento
Trasferire una particella su vetrino portaoggetti e applicarvi una goccia del reagente, senza miscelare.
In alternativa, disperdere uniformemente in strato sottile sul fondo di una scatola Petri una punta di spatola di materiale, in modo tale che le particelle risultino separate e distinte, e ap-

plicarvi a caso qua e là alcune gocce del reagente, senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio a 5-30x su fondo nero
Reazioni:
a) Anioni identificabili
- Acetati = sulla particella si sviluppano microcristalli incolori aghiformi. (Confermare con il metodo 10.5.2.5)
- Cloruri = precipitato bianco gessoso amorfo che si espande lentamente e imbrunisce dopo qualche tempo
- Fosfati monobasici = precipitato giallo amorfo diffuso
- Fosfati bibasici = sulla particella si sviluppano microcristalli gialli aghiformi o rombici
- Solfati = la particella si dissolve, quindi si forma istantaneamente un precipitato di microcristalli rombici, incolori e trasparenti
b) Altre possibilità
- la particella si dissolve senza reazione = probabilmente nitrati. (Confermare con il metodo 10.5.2.4)
- nessuna reazione = altri gruppi anionici: probabilmente carbonati, fosfati tribasici, sabbia, ossa, che potranno essere identificati con i metodi indicati nei rispettivi paragrafi.

Nota. In caso di miscele di più sali, gli anioni cloruri, fosfati, solfati, sono identificabili contemporaneamente anche in una unica goccia del reagente.

10.5.2.2 Carbonati

Reagente: Acido cloridrico (10.3.2)
Procedimento
Trasferire su vetrino un frammento isolato, oppure una punta di microspatola di materiale, e applicarvi una o più gocce del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio a 5x su fondo nero
Reazione:
Le particelle di carbonato si dissolvono con effervescenza immediata e rapida.

Nota. Una effervescenza lenta e debole può indicare che si tratti di frammenti di ossa: trasferire su vetrino altro materiale, aggiungere una goccia di fenolo-glicerolo (9.3.2), esaminare al microscopio composto per confermare la struttura ossea; in alternativa, procedere come in 10.5.2.7.

10.5.2.3 Fosfati tribasici

Reagente: Ammonio molibdato (10.3.3)
Procedimento
Trasferire su vetrino un frammento isolato, oppure una punta di microspatola di materiale, e applicarvi una o più gocce del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio a 5x su fondo nero

Reazione:
In presenza di fosfati, dopo 10-20 minuti si forma un precipitato giallo diffuso microcristallino.

Nota. Il saggio è positivo per tutti i fosfati. Gli ioni mono e bivalenti sono differenziabili con il metodo 10.5.2.1, le ossa con il procedimento 10.5.2.7.

10.5.2.4 Nitrati

Reagenti: 1) Brucina (10.3.4)
2) Argento nitrato (10.3.1)
Procedimento
Trasferire su vetrino una particella, oppure una punta di microspatola di materiale, applicarvi una piccola aliquota del reagente 1) e 1-2 gocce del reagente 2).
Osservazione: stereomicroscopio a 5x su fondo bianco
Reazione:
In presenza di nitrati, si forma una colorazione rosso vivo.

10.5.2.5 Acetati (v. anche 10.5.2.1)

Reagenti: 1) Lantanio nitrato (10.3.5)
2) Soluzione di Jodio (10.3.6)
3) Ammoniaca (10.3.7)
Procedimento
Trasferire su vetrino un frammento di cristallo oppure una punta di microspatola di materiale. Aggiungere una goccia di acqua e miscelare con ago da microscopia. Aggiungere, in successione, una goccia dei reagenti 1), 2) e 3), senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio a 5x su fondo bianco
Reazione:
In presenza di acetati, dopo circa 5 minuti, ai bordi del reagente si forma una colorazione blu.

10.5.2.6 Sabbia

Reagente: Acido solforico (10.3.8)
Procedimento
Trasferire su vetrino un frammento, oppure una aliquota di materiale, e applicarvi alcune gocce del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio a 5-20x su fondo nero
Reazione:
Nessuna: le particelle di sabbia rimangono indisciolte.

10.5.2.7 Ossa

Reagente: Reattivo di Millon (10.3.9)
Procedimento
Trasferire su vetrino un frammento, oppure una aliquota di materiale, e applicarvi alcune gocce del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio a 5-20x

Reazione:
Dopo 5-10 minuti le particelle di ossa si colorano in rosa. La reazione è favorita da un leggero riscaldamento su fiamma debole. Nelle ossa degelatinizzate la colorazione è debole o assente.
V. anche reazione dei Fosfati (10.5.2.3)

10.5.3 Cationi

10.5.3.1 Ammonio

Reagente: Reattivo di Nessler (10.3.10)
Procedimento
Trasferire su vetrino un frammento di cristallo, oppure una aliquota di materiale, e applicarvi una goccia del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio a 5x su fondo nero
Reazione:
In presenza di ammonio, si forma istantaneamente un precipitato amorfo rosso-arancio caseoso.

10.5.3.2 Calcio

Reagente: Acido solforico 10% (10.3.11)
Procedimento
a) Su un lato di un vetrino depositare una goccia di acqua, immergervi il cristallo o frammento e miscelare con ago di platino, avendo cura di non espandere la goccia, che deve avere un diametro di circa 7 mm (goccia-test).
b) Vicino alla goccia-test, ma non a contatto diretto, deporre una goccia del reagente delle medesime dimensioni.
Con l'ago creare un sottile canale di collegamento tra le due gocce, facendo defluire il reagente nella goccia-test, avendo cura di non provocare la fusione delle due gocce e di non coprire con coprioggetto.
In alternativa al punto a), sospendere per qualche minuto una aliquota di materiale in 20 ml di acqua, filtrare, trasferire una goccia del filtrato su un lato di un vetrino (goccia-test) e procedere come al punto b).
Osservazione: microscopio composto a 100x (con la massima rapidità possibile, al fine di evitare corrosioni alla lente dell'obiettivo da parte del reagente. L'osservazione potrà anche essere effettuata dopo alcuni minuti, coprendo il tutto delicatamente con coprioggetto, senza premere)
Reazione:
In presenza di calcio, con inizio dalla periferia della goccia-test, si formano rapidamente cristalli aghiformi, incolori, birifrangenti, singoli oppure riuniti in fasci o rosette. Dopo qualche tempo i cristalli possono trasformarsi in lamine rombiche, embricate a gruppi di 2 o 4.
Prodotto formato: solfato di calcio.

10.5.3.3 Magnesio

Reagente: Potassio antimoniato (10.3.12)
Procedimento
Come per il Calcio (10.5.3.2)
Osservazione: microscopio composto a 250-400x
Reazione:
In presenza di magnesio, dopo 1-2 minuti, alla periferia della goccia-test precipitano lamine esagonali.
Se la goccia-test è molto concentrata in magnesio, si forma un precipitato misto di materiale amorfo, cristalli monoclini e lamine esagonali.
Prodotto formato: antimoniato di magnesio.
Nota. Il reagente è specifico anche per il sodio. In presenza contemporanea di entrambi gli ioni, precipita per primo rapidamente l'antimoniato di sodio (v. 10.5.3.5) e successivamente l'antimoniato di magnesio.

10.5.3.4 Potassio

Reagente: Acido perclorico (10.3.13)
Procedimento
Come per il Calcio (10.5.3.2)
Osservazione: microscopio composto a 250-400x
Reazione:
In presenza di potassio, alla periferia della goccia-test, si formano all'inizio (e soprattutto se la goccia è molto concentrata in potassio) masse o cristalli dendritici. Dopo alcuni minuti si sviluppano prismi incolori ortorombici, corti, tozzi, terminanti talvolta in piramidi, e sottili rombi laminari che successivamente si trasformano in prismi. I cristalli sono debolmente birifrangenti.
Prodotto formato: perclorato di potassio.
Nota. Prismi e lamine rettangolari che talvolta si formano non sono caratteristici del potassio.

10.5.3.5 Sodio

Reagente: Potassio antimoniato (10.3.12)
Procedimento
Come per il Calcio (10.5.3.2)
Osservazione: microscopio composto a 100-250x
Reazione:
In presenza di sodio, alla periferia della goccia-test, precipitano rapidamente piccoli cristalli fusiformi o sottili lamine ellittiche confluenti in croci, stelle o masse globulari, birifrangenti.
Prodotto formato: antimoniato di sodio.
Nota. Il reagente è specifico anche per il magnesio (v. Nota al par. 10.5.3.3).

10.5.4 Microelementi

10.5.4.1 Cobalto, Ferro, Manganese, Rame

Metodo I
Reagente: Potassio prussiato (10.3.14)
Procedimento
Inumidire con il reagente un disco di carta da filtro deposto sul fondo di una scatola Petri. Trasferirvi un cristallo singolo, oppure disperdervi una punta di spatola di materiale.
Osservazione: stereomicroscopio a 5-10x
Reazioni:
Intorno ai cristalli, si formano istantaneamente sulla carta le seguenti colorazioni:
- Cobalto = aloni grigio-viola
- Ferro = macchie verdi
- Manganese = aloni rosa-bruno chiaro (confermare eventualmente con il metodo 10.5.4.3)
- Rame = aloni marrone

Metodo II
Reagenti : 1) Sodio-potassio tartrato (10.3.15)
2) Sale nitroso-R (10.3.16)
Procedimento
Inumidire con il reagente 1) un disco di carta da filtro deposto sul fondo di una scatola Petri. Trasferirvi un cristallo singolo, oppure disperdervi una punta di spatola di materiale. Aggiungere alcune gocce del reagente 2).
Osservazione: stereomicroscopio a 5-10x
Reazioni:
Intorno ai cristalli, si formano istantaneamente sulla carta le seguenti colorazioni:
- Cobalto = macchie rosa
- Ferro = macchie verde intenso
- Rame = anello bruno intorno ai cristalli; macchie brune sparse sulla carta, per le polveri.

Sensibilità del metodo:
- 1 ppm Cobalto carbonato equivalente
- 0.2 " " solfato "
- 1 " Ferro solfato "
- 1:100.000 Rame carbonato "

10.5.4.2 Jodio

a) Jodati (di Calcio e di Potassio)
Reagenti: 1) Carta amido (10.3.17)
2) Acido ipofosforoso (10.3.18)
Procedimento
Inumidire con il reagente 2) un disco di carta amido 1) deposta sul fondo di una scatola Petri. Trasferirvi un cristallo singolo oppure una punta di spatola di materiale.

Osservazione: stereomicroscopio a 5x
Reazione:
In presenza di Jodati, si formano macchie blu sulla carta intorno alle particelle del sale.
La reazione è lenta. Se non avviene entro alcuni minuti, aggiungere altro acido.
Sensibilità del metodo:
- 1 ppm Calcio jodato equivalente

b) Joduro (di Potassio)
Reagenti: 1) Carta amido (10.3.17)
2) Acqua di bromo (10.3.19)
Procedimento, osservazione e reazione: come per Jodati.
Sensibilità del metodo:
- 1 ppm Potassio joduro equivalente

10.5.4.3 Manganese

Reagenti: 1) Sodio idrato 2N (10.3.20)
2) Benzidina (10.3.21)
Procedimento
Inumidire con il reagente 1) un disco di carta da filtro deposto sul fondo di una scatola Petri. Depositarvi un cristallo, oppure una punta di spatola di materiale. Aggiungervi una o più gocce del reagente 2).
Osservazione: stereomicroscopio a 5x
Reazioni:
- Carbonato, solfato = macchie blu di dissoluzione che dai cristalli si estendono sulla carta
- Ossido = aloni blu scuro o verde scuro intorno ai cristalli
Sensibilità del metodo:
- 1 ppm Ossido di manganese equivalente.

Nota. La reazione è immediata e il colore svanisce rapidamente. Eventuali cristalli di Cobalto carbonato presenti nei materiali misti si colorano in blu dopo 5 minuti.

10.5.4.4 Molibdeno

Reagente: Fosfato bipotassico (10.3.22)
Procedimento
Come per il Calcio (10.5.3.2), acidificando la goccia-test con una goccia di acido nitrico diluito.
Osservazione: microscopio composto a 250-400x
Reazione:
In presenza di molibdeno, alla periferia della goccia-test si forma un precipitato istantaneo giallo, denso, polverulento, dal quale si sviluppano corpi sferici e quindi piccoli ottaedri isotropi.
Se dopo pochi secondi la reazione non è avvenuta, scaldare leggermente il vetrino su fiamma debole e lasciare raffreddare per 2-3 minuti.
Prodotto formato: fosfomolibdato di potassio.

10.5.4.5 Selenio

Reagenti: 1) Sodio idrato 20% (10.3.23)
2) Acido citrico (10.3.24)
3) Idrossilammina cloridrato (10.3.25)

Procedimento

a) Depositare su un vetrino una goccia del reagente 1) e immergervi un cristallo miscelando sino a dissoluzione.
b) Aggiungere alcuni cristalli del reagente 2) e miscelare sino a dissoluzione. Se si forma un precipitato, aggiungere altro acido citrico fino a ottenere una goccia limpida. Aggiungere un frammento del reagente 3).
In alternativa al punto a), immergere 1-2 g di materiale in 10-20 ml del reagente 1) e filtrare. Trasferire una goccia del filtrato su vetrino e procedere come al punto b).
Osservazione: stereomicroscopio a 5-20x su fondo bianco
Reazione:
In presenza di selenio, intorno al frammento del reagente 3) si forma un anello di colore bruno.
Talvolta precipita selenio elementare di colore rosso vivo.
La reazione è lenta. Attendere almeno 1 ora prima di escludere o confermare la presenza dell'elemento.

10.5.4.6 Zinco

Reagenti: 1) Sodio idrato 2N (10.3.20)
2) Dithizone (10.3.26)

Procedimento

Inumidire con il reagente 1) un disco di carta da filtro posato sul fondo di una scatola Petri, depositarvi un cristallo, oppure spargervi una punta di spatola di materiale, aggiungervi una o più gocce del reagente 2).
Osservazione: stereomicroscopio a 5x
Reazione:
In presenza di zinco, si forma un colore fucsia intenso che si espande sulla carta.
Nota. Eventuali cristalli di sali di rame presenti nel materiale si colorano in blu.

10.6 Procedimenti per composti organici

10.6.1 Premessa

I prodotti organici utilizzati nella produzione dei mangimi possono essere costituiti da cristalli grossolani, interi o frantumati, da microcristalli, da polveri fini di svariate sostanze: amminoacidi, zuccheri, vitamine ecc.

L'analisi è basata su reazioni cromatiche di identificazione di gruppi o di complessi e può essere eseguita sia su cristalli singoli sia su aliquote di materiali fini anche misti, con una delle seguenti tecniche:

a) Per cristalli isolabili
Si estraggono uno o più cristalli o frammenti simili, da saggiare separatamente fino all'identificazione del composto;

b) Per particelle non isolabili
Si prelevano aliquote di materiale, da saggiare separatamente.

10.6.2 Composti azotati

10.6.2.1 Amminoacidi

Reagente: Ninidrina (10.3.27)

Procedimento
Inumidire con acqua un disco di carta da filtro deposto in scatola Petri. Trasferirvi un cristallo, oppure disperdervi una aliquota di materiale, e spargervi sopra una punta di microspatola del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio a 5-10x
Reazione:
In presenza di amminoacidi, dopo alcuni minuti i cristalli di ninidrina si colorano in viola.

10.6.2.2 Urea

Metodo I
Reagenti: 1) Rosso cresolo (10.3.32)
2) Ureasi (10.3.33)
Procedimento
Saturare con il reagente 1) un disco di carta da filtro deposto in scatola Petri. Trasferirvi un cristallo, oppure disperdervi una aliquota di materiale, e spargervi sopra una punta di microspatola del reagente 2).
Osservazione: stereomicroscopio a 5-10x
Reazione:
In presenza di urea si sviluppano, intorno ai cristallini di ureasi, macchie rosso vivo che si espandono e possono confluire.
Nota. Eseguire contemporaneamente una prova in bianco senza ureasi, per escludere eventuali interferenze da parte di materiali suscettibili di sviluppare ammoniaca (es: idrolizzati proteici, sali ammoniacali ecc.).

Metodo II
Reagenti: 1) ureasi (10.3.33)
2) tornasole rosso (10.3.38)
Procedimento
Trasferire 1 g di campione macinato in provetta da 20 ml, aggiungere una punta di microspatola del reagente 1), mescolare e coprire con acqua. Tappare ermeticamente la provetta, inserendo tra il bordo e il tappo una striscia di tornasole 2), avendo cura che la cartina resti sospesa sul materiale senza toccarlo. Lasciare in riposo.
Osservazione: a occhio nudo
Reazione:
Entro 20 minuti, in presenza di urea la cartina si colora in blu. Risultati positivi ottenuti oltre 20 minuti non sono significativi.

10.6.3 <u>Zuccheri</u>

10.6.3.1 Glucosio

Reagente: Clinistick (10.3.28)
Procedimento
Inumidire con acqua l'area reattiva e trasferirvi un cristallo.
Osservazione: stereomicroscopio a 5x
Reazione:
Intorno al cristallo l'area reattiva si colora in viola.

In alternativa, sospendere 1 g di materiale in 20 ml di acqua, agitare per alcuni minuti e filtrare.
Immergere l'area reattiva nel filtrato e toglierla rapidamente.
Osservazione: a occhio nudo
Reazione:
In presenza di glucosio, l'area reattiva si colora in viola.
Nota. Le reazioni avvengono entro 10 secondi. Eventuali colorazioni in tempi successivi non sono significative.

10.6.3.2 Lattosio

Reagenti: 1) Cloruro di metilammonio (10.3.29)
2) Sodio idrato 20% (10.3.23)
Procedimento
Sospendere per alcuni minuti 2-3 g di mangime finemente macinato in 20-30 ml di acqua bollente e filtrare.
Trasferire 4 ml di filtrato in provetta, aggiungere 5 gocce del reagente 1) e fare bollire per 30 secondi su fiamma leggera.
Rimuovere, aggiungere 5 gocce del reagente 2) e agitare per alcuni secondi.
Osservazione: a occhio nudo
Reazione:
In presenza di lattosio, la soluzione si colora istantaneamente in giallo e quindi in rosso vivo. La reazione avviene entro pochi secondi.
Nota. La reazione è significativa in assenza di maltosio.

10.6.3.3 Saccarosio

Metodo I
Reagenti: 1) Anthrone (10.3.30)
2) Acido solforico concentrato (10.3.8)
Procedimento
Trasferire su vetrino un cristallo, oppure una aliquota di materiale, aggiungere 2-3 gocce di acqua, una punta di microspatola del reagente 1) e 2 gocce del reagente 2).
Osservazione: stereomicroscopio a 5x su fondo bianco.
Reazione:
In presenza di saccarosio appare un colore blu-verde intenso.

Metodo II
Reagente: Cloruro stannoso (10.3.31)
Procedimento
Sospendere 2-3 g di mangime finemente macinato in 20-40 ml di acqua, agitare per alcuni minuti e filtrare. Trasferire 1-2 gocce del filtrato in provetta, aggiungere 10-20 gocce del reagente e scaldare su fiamma leggera per 5 secondi, evitando l'ebollizione.
Osservazione: a occhio nudo
Reazione:
Dopo raffreddamento, ed entro 5 minuti, in presenza di saccarosio appare una colorazione blu.
Nota. La reazione è significativa in assenza di glucosio. In presenza contemporanea di saccarosio e glucosio, appare un colore rosso intenso.

10.6.4 Vitamine

10.6.4.1 Preparati di Vitamina A

Reagente: Reattivo di Carr-Price (10.3.35)
Procedimento
Depositare in scatola Petri uno strato di reagente (spessore 2-3 mm) e spargervi sopra uniformemente una aliquota di materiale, senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio a 10-20x su fondo bianco

Reazione:
Le sferette di vitamina A galleggiano e si colorano istantaneamente in blu scuro. Intorno ad esse si formano quindi aloni o correnti di dissoluzione del medesimo colore.

10.6.4.2 Vitamina C (acido ascorbico e derivati)

Reagente: acido selenioso (10.3.36)
Procedimento
Depositare in scatola Petri un sottile strato di reagente e disperdervi sopra uniformemente una aliquota di materiale, senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio a 10-20x su fondo bianco
Reazione:
I cristallini o la polvere di vitamina C e dei suoi derivati si colorano rapidamente in rosso scuro.

10.6.5 Antibiotici

10.6.5.1 Tetracicline, Eritromicina, Oleandomicina, Tylosina

Reagente: Reattivo di Sakaguchi (10.3.37)
Procedimento
Depositare in scatola Petri un sottile strato del reagente e spargervi sopra uniformemente una aliquota di materiale fine, senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio a 10-30x su fondo bianco
Reazioni:
In corrispondenza delle particelle di antibiotico si formano istantaneamente aloni e strie colorati:
- Clorotetraciclina = blu/viola intenso
- Ossitetraciclina = rosso vivo
- Eritromicina = rosso scuro
- Oleandomicina = bruno scuro
- Tylosina = verde oliva

Nota. Con il reagente, altri componenti delle miscele possono sviluppare colori simili a quelli descritti:
- la vitamina A si colora in blu scuro;
- i frammenti proteici vegetali e animali si colorano (lentamente) in bruno scuro.
L'esame deve pertanto essere immediato e volto anche a differenziare visivamente le caratteristiche delle particelle colorate.

10.7 Procedimenti enzimatici

10.7.1 Ureasi (nei semi di soia e nei loro derivati)

Reagente: Soluzione di Rosso cresolo e urea (10.3.34)
Procedimento
Disperdere uniformemente su carta da filtro in scatola Petri una aliquota di prodotto e spargervi sopra il reagente, senza miscelare. (I semi interi saranno grossolanamente triturati).
Osservazione: stereomicroscopio a 5-20x
Reazioni:
- Prodotto non tostato: le particelle dei cotiledoni di soia non tostata, o tostata in modo insufficiente, si colorano lentamente (30-60 secondi) in rosso vivo. Intorno ad esse si formano aloni di colore rosso scuro, i quali possono confluire fino a colorare tutto il reagente.
- Prodotto sufficientemente tostato: si colorano rare particelle di soia.
- Prodotto surriscaldato: nessuna colorazione
Note.
1) I tegumenti dei semi di soia non si colorano.
2) Le particelle molto fini si colorano con difficoltà.
3) Altre sostanze suscettibili di sviluppare ammoniaca si colorano in rosso. Tuttavia esse si differenziano dalla soia non tostata per la colorazione istantanea anziché graduale.

11 ANALISI IN FLUORESCENZA

11.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di facilitare la distinzione di prodotti vegetali e animali e di consentire il rilevamento nelle miscele di quantità anche minime di taluni additivi utilizzati in forma solida.
Si applica ai mangimi e agli integratori allo stato secco.

11.2 Principio

Alcune sostanze contenute naturalmente nei tessuti biologici sono autofluorescenti (fluorescenza primaria); in altre sostanze una fluorescenza secondaria può essere provocata da reagenti (fluorescenza indotta) oppure da coloranti fluorescenti (fluorocromia).
Il microscopio convenzionale, stereoscopico o composto, può essere convertito temporaneamente in microscopio in fluorescenza mediante l'applicazione di una sorgente di luce ad alta intensità nello spettro UV-visibile e di filtri di eccitazione nell'UV e nel blu-violetto.
I colori di fluorescenza (giallo/verde/azzurro con filtro UV, rosso/arancio con filtro blu) sono visualizzati in ambiente oscurato (stereomicroscopio) o su fondo buio (microscopio composto).

11.3 Reagenti

11.3.1 Glicerina
11.3.2 Olio da immersione per fluorescenza
11.3.3 Soluzione di Arancio acridina
a) I. Sciogliere 0.1 g di Arancio acridina in 100 ml di acqua (Soluzione stock stabile. Mantenere a 4°C)
II. Tampone fosfato 0.05M a pH 7
b) Soluzione di lavoro: diluire la soluzione I allo 0.1% nella soluzione II. (Stabile per una settimana. Mantenere a temperatura ambiente).
11.3.4 Acido solforico concentrato
11.3.5 Soluzione alcalina di potassio ferricianuro (Sciogliere 0.1 g di potassio ferricianuro e 2.5 g di idrato di sodio in 100 ml di acqua)
11.3.6 Cloralio idrato acidificato (pH 2-5) (Sciogliere 60 g di cloralio idrato in 40 ml di acqua e aggiungere 10 gocce di acido solforico concentrato. Stabile per un mese)
11.3.7 Fenolo-glicerolo (13 g di fenolo cristallino in 87 ml di glicerolo anidro)

11.4 Preparazione del campione

Prelevare una aliquota (5-10 g) di campione, suddividerla in frazioni granulometriche, utilizzando la serie di setacci più idonea, come indicato in 7.4.1.2.

I mangimi pellettati o granulati saranno preventivamente triturati in mortaio (3.7).

11.5 Autofluorescenza

11.5.1 Materiali autofluorescenti

Sono autofluorescenti: cellulosa, amido, aleurone, oli e grassi, clorofilla, caroteni, alcaloidi, nei tessuti vegetali; tessuti muscolari, collagene, porfirine, nei tessuti animali.
Benché non sia sempre specifica, la fluorescenza naturale fornisce informazioni orientative, che possono assumere significato diagnostico in integrazione con esami delle strutture istologiche.

11.5.2 Tecniche di osservazione

Le tecniche di esame consistono dei seguenti procedimenti:
1) Stereomicroscopio
Disperdere in strato uniforme sul fondo di scatole Petri le varie frazioni allo stato naturale ed esaminare direttamente al microscopio in fluorescenza.
2) Microscopio composto
Allestire su vetrino, in acqua o glicerina (11.3.1) oppure in olio da immersione (11.3.2), piccole aliquote della frazione più fine ed esaminare al microscopio in fluorescenza a basso ingrandimento (40-100x).

11.5.3 Colori di fluorescenza naturale

- Materiali cellulosici (tegumenti di frutti e semi, crusche, glume, steli, paglia ecc.) = azzurro
- Amidi = azzurro
- Materiali proteici (aleurone, glutine, fibre muscolari, penne, latte in polvere, ecc.) = verde
- Oli, grassi, residui di semi oleosi = giallo
- Foglie, steli di erbe foraggere = aree rosse (clorofilla) su fondo azzurro (cellulosa)
- Cotiledoni dei semi di:
  girasole = azzurro
  cartamo = rosso cupo
  mandorla (dolce e amara) = lilla
  albicocche = verde-azzurro
  Mohwra = grigio lattescente con zone di colore ambra
- Bucce dei semi di *Datura stramonium* = verde-azzurro

11.6 Fluorescenza secondaria

La fluorescenza secondaria, altamente specifica, consente di: 1) rilevare lieviti e batteri nelle miscele e stabilire se le cellule sono state inattivate; 2) differenziare i tessuti muscolari dai tessuti cornei e dal sangue; 3) individuare alcune vitamine e antibiotici nelle miscele.

11.6.1 Lieviti, Batteri

Colorante: Arancio acridina (11.3.3)
Procedimento
Trasferire su vetrino una piccola aliquota di materiale fine, aggiungere alcune gocce del colorante, miscelare. Dopo alcuni minuti aggiungere una goccia di acqua e coprire con coprioggetto esercitando una leggera pressione.
Osservazione: microscopio composto in fluorescenza a 400-600x
Reazioni:
- Lieviti vivi = le cellule mostrano l'autofluorescenza verde delle proteine
- Lieviti morti = le cellule fluorescono in rosso-arancio
- Lieviti lisati = aloni fluorescenti rosso arancio luminoso ai bordi delle cellule, assenza di colorazione nel citoplasma
- Batteri vivi = le cellule fluorescono in rosso-arancio
- Batteri morti = le cellule mostrano l'autofluorescenza verde delle proteine

11.6.2 Sangue, Tessuti muscolari, Tessuti cornei

Reagente: Acido solforico (11.3.4)
Procedimento
Trasferire su vetrino una piccola aliquota di materiale fine, applicarvi 1-2 gocce del reagente, miscelare e coprire con coprioggetto.
Osservazione: microscopio composto in fluorescenza a 100-250x
Reazioni:
- le particelle di sangue fluorescono istantaneamente in rosso intenso (conversione dell'emoglobina in protoporfirina), che sbiadisce rapidamente
- nelle fibre muscolari, sul fondo verde autofluorescente dominante delle proteine, si notano zone di colore rosa-rosso spento, dovute a residui di emoglobina
- i tessuti cornei (unghie, peli, penne), privi di emoglobina, mostrano l'autofluorescenza verde uniforme della cheratina

11.6.3 Vitamine

11.6.3.1 Vitamina B1

Reagente: Potassio ferricianuro (11.3.5)
Procedimento
Depositare sul fondo di una scatola Petri un sottile strato di reagente e disperdervi sopra uniformemente una aliquota di materiale fine, senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio in fluorescenza a 10-30x
Reazione:
Intorno ai cristallini di vitamina si formano aloni fluorescenti di dissoluzione di colore azzurro.

In alternativa, trasferire su vetrino una aliquota di materiale fine, aggiungere alcune gocce del reagente, coprire con coprioggetto e osservare al microscopio composto in fluorescenza a 100x

Nota. Con il reagente anche il coccidiostatico Amprolium sviluppa fluorescenza azzurra.

11.6.3.2 Vitamina B2

Reagente: cloralio idrato acidificato (11.3.6)
Procedimento
Depositare sul fondo di una scatola Petri un sottile strato di reagente e disperdervi sopra uniformemente una aliquota di materiale fine, senza miscelare.
Osservazione: stereomicroscopio in fluorescenzaa 10-30x
Reazione:
In corrispondenza dei cristallini di vitamina si formano macchie o aloni fluorescenti di colore giallo verde.
La fluorescenza è istantanea e svanisce rapidamente.

In alternativa, trasferire su vetrino una aliquota di materiale fine, aggiungere alcune gocce del reagente, corpire con coprioggetto e osservare al microscopio composto in fluorescenzaa 100x

11.6.4 Antibiotici

11.6.4.1 Tetracicline

Reagente: Fenolo-glicerolo (11.3.7)
Procedimento
Trasferire una aliquota di materiale fine in scatola Petri e applicarvi alcune gocce del reagente.
Osservazione: stereomicroscopio in fluorescenza a 10-30x
Reazioni:
Intorno ad ogni particella di antibiotico e di supporto aderente all'antibiotico si formano aloni fluorescenti di dissoluzione:
- Ossitetraciclina = verde-giallo
- Clorotetraciclina = giallo oro

12 IDENTIFICAZIONE DELLE MUFFE

12.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di individuare negli alimenti miceti potenzialmente tossigeni, manifesti o latenti, anche al fine di orientare eventuali ricerche tossicologiche. Si applica a tutti i mangimi.

12.2 Principio

Consiste nell'esaminare al microscopio i caratteri morfologici e strutturali delle muffe nel loro aspetto naturale, oppure in colonie ottenute per coltura.

12.3 Reagenti

12.3.1 Terreno colturale M2 (Sciogliere 20 g di malto, 20 g di agar, 3 g di estratto di lievito in 1000 ml di acqua distillata. Fare bollire miscelando frequentemente finchè il liquido diventa limpido. Sterilizzare in autoclave (3.14) a 121 °C per 15 minuti).
12.3.2 Terreno colturale M5S5 (Sciogliere 50 g di malto, 20 g di agar, 50 g di cloruro di sodio in 1000 ml di acqua distillata. Far bollire miscelando frequentemente finché il liquido diventa limpido. Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti. (pH 6.5)
12.3.3 Lattofenolo (Sciogliere 10 g di fenolo in 10 ml di acqua calda in bagno termostatico (3.11) a 70°C, aggiungere 10 g di acido lattico e 20 g di glicerina)
12.3.4 Acqua glicerinata (20 ml di glicerina in 80 ml di acqua)
12.3.5 Tween 80

12.4 Procedimenti

1) Per alimenti visibilmente contaminati

Si può procedere in due modi:
- esame diretto delle muffe
- esame di colonie ottenute per coltura di porzioni dei miceli

2) Per alimenti sospetti di contaminazione senza manifestazioni visibili di sviluppo di miceti

Si può controllare la potenziale presenza di micogermi latenti con tecniche rapide di microcoltura.

12.4.1 Esame diretto

a) Esaminare la muffa sul prodotto, osservando allo stereomicroscopio a 20-30x: tessitura e colore del micelio, forma dei conidiofori, disposizione dei conidi sui conidiofori.
b) Prelevare e trasferire su vetrino piccole porzioni di micelio e i singoli conidiofori, aggiungere 2-3 gocce di acqua, coprire con coprioggetto con leggera pressione. Osservare al microscopio composto: a 100-250x forma e ramificazioni delle ife e dei conidiofori, a 250-400x le caratteristiche dei conidi.

12.4.2 Esame di colonie

Prelevare dalle muffe piccole quantità di micelio, depositarle su terreno colturale M2 (12.3.1) solidificato in almeno 2 scatole Petri, eseguendo 6-8 inoculi per scatola, chiudere le scatole e lasciare a temperatura ambiente.
Dopo 24 ore si saranno sviluppate piccole colonie sulle quali effettuare le osservazioni indicate in 12.4.1.

12.4.3 Microcolture

Macinare finemente (3.8) 5-10 g di campione e miscelare accuratamente la polvere ricavata.
Sospendere 1 g di prodotto macinato in 100 ml di acqua sterile con alcune gocce di Tween (12.3.5). Agitare per 1 minuto. Diluire a 1:100 o 1:1000.
Versare separatamente in 2 scatole Petri i due terreni colturali (12.3.1 e 12.3.2) allo stato liquido, in quantità sufficiente a formare uno strato di circa 1 mm.
Dopo solidificazione, ritagliare con bisturi da ogni strato 4 porzioni di 10-15 mm di lato e deporre ogni porzione su vetrino portaoggetto. Con una siringa inoculare la sospensione al centro di ognuno dei quattro lati dei quadratini e coprire con coprioggetto.
Preparare per ogni tipo di terreno 4 scatole Petri contenenti ciascuna: un foglio di carta da filtro inumidita con acqua glicerinata (12.3.4); una bacchetta di vetro piegata ad U.
Depositare il vetrino sulla bacchetta, chiudere la scatola e incubare per 7-10 giorni in stufa (3.9): a 25°C per il terreno 12.3.1, a 35°C per il terreno 12.3.2.
Di tanto in tanto osservare allo stereomicroscopio l'eventuale comparsa e sviluppo di miceti.
Quando i corpi fruttiferi si siano formati, staccare delicatamente con le pinze i coprioggetti, farli asciugare perfettamente, e trasferirli senza premere su vetrini portaoggetti sui quali sia stata depositata 1 goccia di lattofenolo (12.3.3).
Osservare al microscopio composto a 100-400x le caratteristiche delle strutture riproduttive mature che saranno rimaste aderenti al coprioggetto.
Nota. Tutti gli oggetti utilizzati per la ricerca dovranno essere sterilizzati in autoclave a 121°C per 15 minuti.

Bisturi e pinze possono essere di volta in volta flambati con alcole.

12.4.4 Identificazione

Le più comuni muffe contaminanti gli alimenti zootecnici sono elencate nella Tabella 2, nella quale sono indicati i principali metaboliti e i più probabili substrati.
I principali caratteri morfologici e strutturali sono sintetizzati in Tabella 3. (*)

Tabella 2. Principali muffe contaminanti gli alimenti zootecnici e principali principi attivi.

Genere e Specie	Principio attivo	Substrato
Aspergillus		
flavus	Aflatossine	
fumigatus	Fumigallina, chinoni	Fieni, cereali, erbe,
ochraceus	Ocratossine	farine di carne,
niger	Acido ossalico	semi oleosi
candidus	Candidulina	
nidulans	Sterigmatocistina	
Penicillium		
cyclopium	Acido penicillico	Cereali, erbe, farine
expansum	Clavacina	di carne
Fusarium		
graminearum	Zearalenone	Cereali
tricinctum	Scirpeni	
Cladosporium		
cladosporioides	Acido cladosporico	Frumento, farine vegetali
Alternaria spp	Flavipina	Cereali, erbe, farine di carne
Trichotecium roseum	Tricotecina	Cereali, farine vegetali
Stachybotrys altra	Stachibotriotossina	Fieni, paglie

(*) V. anche Riferimento bibliografico (6).

Tabella 3 Principali caratteri colturali e strutturali di alcune muffe comuni

Genere e Specie	Apparato vegetativo		Organi riproduttivi				
	Micelio		Conidiofori	Conidi			
	Tessitura	Colore	Forma	Disposizione	Forma	Dimensioni (um)	Colore
Aspergillus			Testa conidiale:				
flavus	granulosa	verde giallo	emisferica	Catene	Globosa		verde
fumigatus	rasata	verde petrolio	emisferica	Catene	Globosa		verde
ochraceus	fioccosa	giallo ocra	colonnare	Catene	Globosa	2–4	ocra
niger	fioccosa	nero	raggiata	Catene	Globosa		marrone scuro
candidus	granulosa	bianco beige	raggiata	Catene	Globosa		incolore
nidulans	rasata	beige scuro	globosa	Catene	Globosa		verde beige
Penicillium							
cyclopium	granulosa	verde petrolio	Penicillo	Catene	Globosa	4–5	griglo verde
expansum	granulosa	verde petrolio	Penicillo	Catene	Globosa	4–5	griglo verde
Fusarium							
graminearum	cotonosa	marrone giallastro	Indifferenziato	Gruppi apicali	A falce/5 setti	40x3	incolore
tricinctum	compatta	rosa	Indifferenziato	Gruppi apicali	A falce/3 setti,	35x4	incolore
					microconidi ovali	8x4	incolore
Cladosporium							
cladosporioide	vellutata	verde oliva	Indifferenziato	Catene ramificate	Piriforme bicellulare	18x10	verde oliva
Alternaria spp	lanosa	grigio, verde oliva	Indifferenziato	Catene ramificate	A clava multicellulare	30x10	verde oliva
Trichotecium							
roseum	cotonosa	rosa, arancio, salmone	Indifferenziato	Gruppi apicali	Ellittica	3–5	incolore
Stachybotrys							
atra	rasata	grigio, nerastro	Indifferenziato	Gruppi apicali	Ovale	10x7	nero

13 ANALISI QUANTITATIVA

13.1 Scopo e applicazione

Ha lo scopo di: 1) valutare se eventuali impurezze, ingredienti estranei, materiali adulteranti, parti di piante indesiderabili ecc., rientrano nei limiti tollerati dalla normativa; 2) controllare se nelle miscele è rispettato l'ordine ponderale decrescente indicato dal produttore.
Si applica ai mangimi semplici e composti allo stato secco.

13.2 Principio

Si suddivide in frazioni un peso noto di campione e si determina la percentuale ponderale di ogni frazione rispetto al campione iniziale.
Si valuta in ogni frazione la percentuale del/dei componenti da determinare.
La quantità totale ricercata viene calcolata a partire dalle percentuali parziali valutate nelle diverse frazioni e dalle percentuali di queste frazioni nel campione iniziale.

13.3 Preparazione del campione

Pesare, a ± 0.1 g: 10 g per i prodotti a granulometria grossolana e media, 5 g per i prodotti fini.
Frazionare la quota stabilita seguendo uno dei procedimenti indicati nel cap.7, secondo il tipo di mangime (si potranno utilizzare le medesime frazioni preparate per l'analisi qualitativa, se si avrà cura di eseguire preventivamente le necessarie pesate).
Pesare a ± 0.01 g il sedimento asciutto (frazione S) e calcolarne la percentuale (xs) sul campione iniziale.
Pesare a ± 0.01 g le singole frazioni organiche (frazione I,II,...N) e calcolarne le percentuali (x1,x2...xn) rispetto al totale del campione iniziale.
Operare quindi, secondo le circostanze, con uno dei procedimenti sotto indicati (13.4 e 13.5).

13.4 Estrazione

13.4.1 Premessa

La tecnica è basata sull'estrazione manuale delle particelle di dimensioni superiori a 0.5 mm di diametro, che possono essere identificate allo stereomicroscopio e separate senza perdite significative, e può essere integrata dalla stima visiva dei componenti fini identificabili al microscopio composto.

4 - Libreria - Suppl ord alla G U n 123

Le aliquote minime necessarie per ottenere risultati medi rappresentativi, sono le seguenti:

a) 1-2 g, o la totalità, delle frazioni con particelle di ϕ > 1.5 mm

b) 0.5-1 g delle frazioni con particelle di ϕ compreso fra 1.5 -1 mm

c) - 0.05-0.1 g delle frazioni con particelle di ϕ compreso fra 1-0.5 mm

13.4.2 Procedimento

13.4.2.1 Pesare a ± 0.01 g, per ogni frazione I, II,...N-1, le aliquote a), b), c) stabilite e trasferire in scatola Petri, disperdendo uniformemente in strato sottile.
Operando allo stereomicroscopio, estrarre da ogni aliquota tutte le particelle del componente da determinare, raccoglierle separatamente e pesare a ± 0.0001 g. Calcolare le percentuali a1,a2,...an-1 del componente rispetto ad ogni frazione.
13.4.2.2 Prelevare una piccola aliquota (0.01 g) della frazione N e allestire un preparato su vetrino.
Operando al microscopio composto, esaminare a caso un campo e stimare la percentuale del componente da determinare, valutando i rapporti di superficie delle particelle del componente rispetto al complesso di tutte le particelle visibili in quel campo.
Esaminare almeno 3 preparati e 5 campi per ogni preparato e valutare la percentuale media (an) rispetto alla frazione N.

13.4.3 Calcolo dei risultati

La percentuale del componente nel campione è data dalla formula:

$$\frac{a1x1 + a2x2 + ...anxn + asxs}{100}$$

dove:

a1	= % del	componente	nella frazione	I
a2	= %	"	"	II
an	= %	"		N
as	= % del	"	nel sedimento	S
x1	= % della	frazione	I nel campione	iniziale
x2	= %	"	II	"
xn	= %	"	N	"
xs	= % del	sedimento	S	"
100	= x1+x2...+xn+ xs		(*)	

(*) Durante le varie manipolazioni del campione, si potranno verificare piccole perdite, soprattutto a carico dei materiali fini, di conseguenza il peso totale delle varie frazioni non risulterà rigorosamente uguale al peso del campione iniziale. Tali perdite non sono generalmente significative e la quota mancante potrà essere addebitata all'ultima frazione N, il cui peso sarà calcolato per differenza.

Nei mangimi pellettati, se le perdite dovute al lavaggio in acqua sono consistenti, si potrà operare su un secondo campione triturato in mortaio e setacciato, pesando le nuove frazioni e facendo riferimento ai pesi ottenuti per calcolare le percentuali del componente estratto dal primo campione.

Nota.
Le percentuali ottenute rappresentano, di norma, valori minimali, leggermente inferiori ai valori reali.

13.5 Conta

13.5.1 Premessa

La tecnica è basata sulla conta delle particelle di dimensioni superiori a 0.5 mm di diametro che possono essere identificate allo stereomicroscopio, e può essere integrata dalla stima visiva dei componenti fini identificabili al microscopio composto.
Le aliquote minime necessarie per ottenere risultati medi rappresentativi sono le stesse indicate in 13.4.1.1.

13.5.2 Procedimento

13.5.2.1 Pesare a ± 0.01 le aliquote stabilite per ogni frazione I, II,....N-1, e disperdere uniformemente in strato sottile sul fondo di scatole Petri.
Operando allo stereomicroscopio, per ogni aliquota esaminare a caso un campo e contare le particelle del componente da determinare e tutte le altre particelle visibili in quel campo, e calcolare la percentuale del componente rispetto al complesso di tutte le particelle.
Esaminare almeno 3 aliquote per ogni frazione e 5 campi per ogni aliquota, e calcolare le percentuali medie (a1, a2,....an-1) del componente rispetto ad ogni frazione.
13.5.2.2 Procedere come in 13.4.2.2.

13.5.3 Calcolo dei risultati

Come in 13.4.3.

Note.
1) Il metodo fornisce stime orientative ed è utile, nella routine, per valutare l'ordine decrescente dei componenti delle miscele.
2) Miscele di confronto e di riferimento sono utili nella stima di ingredienti estranei nei mangimi semplici.

13.6 Tolleranze del metodo

± 5 unità per valori stimati pari o superiori a 30%
± 3 unità " " " inferiori a 30% fino a 10%
± 2 unità " " " " 10% " 5%
± 1 unità " " " inferiori a 5%

13.7 Espressione dei risultati

Le percentuali accertate saranno espresse in numeri interi.

13.8 Tecniche speciali

13.8.1 Determinazione della lolla di riso

Reagente: acido nitrico concentrato (9.3.15)
Procedimento
Trasferire 10 g di prodotto tal quale (sfarinati) o leggermente macinato (pellets) in capsula di porcellana da 750 ml (4.16). Aggiungere 40 ml del reagente, miscelare e lasciare in riposo per 5 minuti.
Aggiungere 500 ml di acqua e bollire per 20 minuti, agitando di tanto in tanto. Diluire con acqua fredda, mescolare e lasciare in riposo 1-2 minuti. Decantare parzialmente il liquido surnatante, lavare il residuo con acqua corrente, imprimendo alla capsula un movimento rotatorio per facilitare il deposito dei frammenti secondo la densità, e decantare di nuovo rapidamente: la lolla si depositerà sul fondo (sarà riconoscibile per la colorazione bruna dei frammenti), mentre gli altri materiali, parzialmente disciolti dal trattamento, resteranno in sospensione e verranno allontanati durante la decantazione. Ripetere il lavaggio 2-3 volte. Essiccare il residuo in stufa a 90 °C per 4 ore.
Esaminare il residuo allo stereomicroscopio e togliere eventuali frammenti estranei alla lolla. Pesare, moltiplicare per il fattore di correzione delle perdite per dilavamento, pari a 1.77.
Esprimere il risultato in g%.

13.8.2 Determinazione dei gusci di ricino

Reagenti: 1) acido nitrico 10%
2) sodio idrato 2.5%
Procedimento
Trasferire 100 g di prodotto tal quale (sfarinati) o leggermente macinato (pellets) in capsula di porcellana da 750 ml, aggiungere 500 ml del reagente 1), agitare, fare bollire per 30 secondi.
Filtrare su garza e lavare il residuo con acqua calda.
Trasferire il residuo in altra capsula, aggiungere 500 ml del reagente 2), agitare, fare bollire per 30 secondi, filtrare su garza e lavare con acqua calda.

Trasferire il residuo in cilindro da 1000 ml, riempire con acqua, agitare e lasciare in riposo alcuni minuti.
Fare passare una leggera corrente di acqua per mezzo di un tubicino (di vetro o di gomma) che raggiunga il terzo superiore del liquido. Regolare il getto di acqua in modo da rimuovere solo leggermente il deposito di fondo contenente i gusci. Allorché saranno stati allontanati i materiali leggeri, localizzati in superficie e in sospensione, decantare 2/3 del liquido, filtrare il residuo su garza e trasferirlo in scatola Petri disperdendo uniformemente.
Operando allo stereomicroscopio su fondo bianco, estrarre i frammenti di gusci di ricino riconoscibili e porli ad essiccare in stufa a 100 °C per 4 ore. Raffreddare e pesare. Moltiplicare per il fattore di correzione delle perdite per dilavamento, pari a 1.3.
Esprimere il risultato in mg/Kg.

PARTE II

CARATTERI E STRUTTURE DEI PRINCIPALI INGREDIENTI

1. Gli ingredienti descritti sono suddivisi, secondo l'origine, in 5 gruppi, articolati secondo i seguenti criteri:

1) Ingredienti vegetali, suddivisi per categoria mereceologica, famiglia/specie botanica, parte utilizzata (frutto/seme/pianta intera, prodotti, sottoprodotti)
   1. cereali
   2. frutti/semi oleosi
   3. legumi
   4. radici/tuberi
   5. frutti vari
   6. foraggi
   7. residui vari
   8. frutti/semi indesiderabili

2) Prodotti lattieri
   1. derivati del latte
   2. derivati del siero

3) Ingredienti animali, suddivisi per gruppo zoologico e parte utilizzata
   1. derivati di animali terrestri
   2. derivati di animali marini

4) Prodotti inorganici
   1. prodotti minerali naturali
   2. sali minerali

5) Composti organici
   1. composti azotati
   2. zuccheri
   3. vitamine
   4. estrogeni

2. Per ogni ingrediente considerato sono descritti:

a) allo stereomicroscopio

le caratteristiche di composizione/tecnologiche e i caratteri fisico-morfologici esterni dei frammenti che lo costituiscono.
Per gli ingredienti vegetali viene anche descritta la conformazione di taluni organi interi e allo stato naturale.
Per i prodotti chimici riconoscibili visivamente, sono descritti i caratteri fisico-morfologici: dei frammenti, per i derivati della macinazione di prodotti naturali; dei cristalli interi, per i sali;

b) al microscopio composto

le strutture interne delle particelle che lo costituiscono.
Per i prodotti di origine biologica sono descritte le strutture dei frammenti dei diversi tessuti vegetali/animali, e sono puntualizzati i principali caratteri diagnostici, necessari e sufficienti a distinguere, anche in assenza di strutture complete, la famiglia o specie botanica/il gruppo zoologico/un nuovo prodotto derivato.
Per le famiglie botaniche rappresentate da più specie, viene anche indicata la struttura generale dell'organo utilizzato.
Per i prodotti chimici riconoscibili visivamente, sono indicate la morfologia, le proprietà ottiche e altre peculiarità dei singoli cristalli interi.

1 INGREDIENTI DI ORIGINE VEGETALE

Sono costituiti raramente da organi delle piante agrarie interi, completi o allo stato naturale. In massima parte sono derivati da processi di macinazione, estrazione di componenti, fermentazioni ecc., che alterano la conformazione naturale delle parti utilizzate e che talvolta sottraggono parte dei tessuti e dei contenuti cellulari, lasciando strutture frammentate, distorte, spesso incomplete.
Il riconoscimento è basato: 1) allo stereomicroscopio, sui principali caratteri naturali (forma, dimensioni, colore, ecc.) degli organi interi e sulle caratteristiche esterne dei frammenti dei derivati; 2) al microscopio composto, sulla istologia di frammenti di tessuti/strati cellulari, che di norma si presentano all'osservazione in visione di superficie; sulla morfologia/dimensioni/dettagli di cellule isolate o di gruppi di cellule, disposte secondo l'orientamento casuale; sulla morfologia e proprietà dei contenuti cellulari, talvolta fuorusciti dalle cellule e sparsi ovunque nei preparati.

A - Struttura generale degli organi vegetali

Gli organi delle piante superiori, pur nella diversa conformazione esterna, che varia secondo la famiglia o la specie botanica, hanno struttura simile, costituita da una successione di tessuti, dall'esterno verso l'interno, generalmente uguale per tutti, ma con forme e contenuti cellulari differenti:

1) Frutto e seme

Il frutto è formato dal pericarpo, o frutto vero e proprio, che avvolge uno o più semi. In alcune specie il pericarpo è rivestito da residui fiorali strettamente aderenti (es. glume di alcuni cereali).
La successione dei tessuti comprende:
- Glume: 1) epidermide superiore; 2) ipoderma fibroso; 3) mesofillo, parenchima spugnoso intermedio; 4) epidermide inferiore
- Pericarpo: 1) epicarpo, rivestimento esterno più o meno consistente; 2) ipoderma (non sempre presente); 3) mesocarpo, zona intermedia, che può essere secco o molle; 4) endocarpo, rivestimento interno che può consistere di una sottile membrana (es. cereali) o di un guscio spesso e duro (es. palme, oliva, mandorla)
- Seme: 1) testa, tegumento esterno più o meno consistente; 2) perisperma (non sempre presente); 3) endosperma; 4) embrione, con

una o due foglie embrionali (cotiledoni), nei quali si distingue l'epidermide e il mesofillo. Perisperma, endosperma ed embrione differiscono nelle varie famiglie botaniche per dimensioni e sviluppo, e contengono, l'uno o l'altro o tutti, i materiali di riserva del seme: proteine/grassi/amido.

2) Foglia

La foglia è formata dalla pagina superiore e dalla pagina inferiore che racchiudono il mesofillo.
La struttura comprende: 1) epidermide superiore; 2) mesofillo, tessuto parenchimatico contenente clorofilla e percorso da fasci vascolari, corrispondenti alle nervature; 3) epidermide inferiore.

3) Radice, Rizoma, Tubero

Hanno struttura simile, costituita da: 1) epidermide, 2) sughero, 3) corteccia, che insieme costituiscono il rivestimento esterno; 4) parenchima con fasci fibrovascolari, che costituisce la polpa.

4) Fusto/stelo

La struttura comprende: 1) epidermide, 2) corteccia, che insieme costituiscono il rivestimento esterno; 3) parenchima spugnoso, con fasci fibrovascolari, che costituisce il cilindro centrale.

B - Principali tessuti ed elementi cellulari

- Parenchima: tessuto fondamentale formato da cellule isodiametriche con pareti sottili
- Parenchima spugnoso: parenchima con grandi spazi intercellulari
- Sclerenchima: tessuto meccanico di sostegno formato da cellule con pareti lignificate (sclereidi)
- Epidermide: tessuto cutaneo di rivestimento esterno o interno (superiore o inferiore) di un organo (es. epicarpo del pericarpo, pagina superiore o inferiore delle foglie)
- Stoma: apertura circolare nell'epidermide
- Tricoma: prolungamento uni o pluricellulare di una cellula dell'epidermide
- Cellule a palizzata: cellule allungate in senso perpendicolare alla superficie dell'organo
- Fasci vascolari e fibrovascolari: gruppi di elementi dei tessuti conduttori, formati da vasi ramificati, con pareti variamente strutturate (punteggiate, reticolate, anulate, spiralate), talvolta accompagnati da fibre di sostegno

- Fibre: cellule dei tessuti meccanici di sostegno, allungate a bastoncino con pareti lignificate
- Corteccia: tessuto protettivo tra l'epidermide, o il sughero, e il parenchima interno del fusto o della radice
- Sughero: tessuto protettivo di cellule tabulari con pareti pigmentate contenenti suberina
- Ilo: 1) punto di inserzione dei semi di alcune famiglie nel pericarpo; 2) nucleo di cristallizzazione dei granuli dell'amido.

C - Contenuti cellulari e loro proprietà

- Amido: polisaccaridi (amilosio e amilopectine) in granuli di forme e dimensioni variabili secondo la specie.
I granuli possono essere semplici o composti; hanno struttura microcristallina submicroscopica con nucleo di origine in un punto (ilo), talvolta visibile in campo chiaro, talvolta percepibile in luce polarizzata. L'ilo può essere: centrale o eccentrico; semplice o doppio o triplo (granuli composti); puntiforme o allungato e/o fessurato. In alcune specie, intorno all'ilo sono visibili strie concentriche chiare e scure alternate.
In luce polarizzata i granuli, birifrangenti, appaiono luminosi e mostrano una croce nera di interferenza le cui braccia si congiungono nell'ilo. Secondo la posizione dell'ilo, nei granuli di alcune specie la croce è di forma regolare, in altre specie mostra braccia asimmetriche, in altre mostra due sole braccia congiunte a formare una V. I caratteri di polarizzazione, molto evidenti in alcuni amidi (es. patata), meno evidenti in altri (es. frumento), possono scomparire per effetto di danneggiamenti quali: trattamenti termici, refrigerazione, macinazione spinta.
I processi termici di gelatinizzazione in presenza di acqua producono nei granuli modificazioni di vari tipi, riconducibili essenzialmente a tre: 1) aumento di volume, perdita graduale della birifrangenza dall'ilo verso la periferia, 2) aumento di volume, distorsione della forma, perdita della birifrangenza dalla periferia verso l'ilo, 3) distorsione della forma, diminuzione di volume, birifrangenza persistente, passaggio in soluzione.
Oltre che all'esame visivo, i granuli possono essere evidenziati con procedimenti di colorazione differenziale, utili per: 1) rilevare amido nei tessuti vegetali o in un alimento: con soluzione di Lugol l'amido si colora in blu; 2) rilevare granuli strutturalmente alterati (spezzati, gelatinizzati): con Rosso Congo 0.5% i granuli, in qualsiasi modo danneggiati, si colorano per intero in rosa-arancio, al contrario dei granuli integri che restano incolori.
- Mucillagini: sostanze gelatinose non organizzate (pectina, gomme) con disposizione concentrica o stratificata o assiale, secondo la famiglia/specie, birifrangenti, a volte con croce di polarizzazione. Con Tionina si colorano in rosso.

- Inulina: polioso in forma colloidale, derivato dalla condensazione del fruttosio. Con alcole etilico forma precipitati sferoidali di cristalli aghiformi (sferocristalli)
- Aleurone: materiale proteico organizzato in corpi sferici, contenenti, benchè raramente visibili nell'analisi di routine, cristalloidi proteici, globoidi di fosfati e di sali organici, cristalli di ossalato di calcio. Con soluzione di Lugol si colora in bruno.
- Tannino: acido tannico in corpi non organizzati, individuabile con reazioni microchimiche: con solfato ferroso si colora in verde scuro/nero, con sodio idrato si colora in blu.
- Grassi, oli: corpi non organizzati. I grassi sono talvolta solidificati in microcristalli aghiformi o raggiati, aggregati in masse birifrangenti; gli oli sono visibili sotto forma di globuli. Grassi e oli si colorano in rosso-arancio con Sudan III.
- Ossalato di calcio: cristallini birifrangenti di varie forme: 1) aghiformi (rafidi), singoli o in fasci; 2) piramidali, semplici o geminati; 3) prismatici, singoli o aggregati in rosette (druse); 4) polvere microcristallina. E' solubile in acido cloridrico, insolubile in acido acetico.

1.1 Cereali e derivati

1.1.1 Graminacee

La cariosside delle Graminacee è un frutto con pericarpo saldato al seme e, in alcune specie, saldato anche alle glume fiorali.
Le glume hanno forma convessa, talvolta con coste longitudinali più o meno rilevate; nella maggior parte delle specie sono spesse e fibrose, con superficie liscia o rugosa, in altre sono sottili e membranacee; possono essere fornite o non di arista e di tricomi ad una estremità.
Il pericarpo è consistente, e in alcune specie è fornito di un ciuffo di tricomi ad un apice.
Nel seme, testa e perisperma sono poco evidenti; l' endosperma cospicuo può essere vitreo o farinoso (secondo la specie o varietà è presente una sola o entrambe le forme), contiene amido quale principale costituente e piccole quantità di proteina; l' embrione oleoso, più o meno consistente, comprende un solo cotiledone.

Sono utilizzati: grani interi, laminati, spezzati, macinati; derivati della molitura, dell'estrazione di componenti, delle distillerie.

Istologia della cariosside
Glume: epidermide superiore di cellule allungate interrotte da cellule rotonde, con o senza stomi, con tricomi; ipoderma di fi-

bre allungate; mesofillo spugnoso; epidermide inferiore di cellule isodiametriche o allungate, con stomi
Pericarpo: epicarpo di cellule allungate, a volte con tricomi; ipoderma di cellule disposte in senso trasversale rispetto a quelle dell'epicarpo (cellule trasversali); endocarpo formato da un solo strato di cellule tubulari
Testa: uno strato di cellule allungate, a volte pigmentate in giallo o bruno
Perisperma: uno strato di cellule indistinte
Endosperma: uno strato esterno di cellule isodiametriche contenenti aleurone (cellule aleuroniche); parenchima interno di cellule isodiametriche contenenti amido immerso in un sottile reticolo proteico
Embrione: piccole cellule poligonali contenenti olio e proteina
Gli elementi più utili ai fini dell'identificazione sono: epidermide superiore delle glume; cellule trasversali del pericarpo; cellule aleuroniche; amido; tricomi.

1.1.1.1 Avena (*Avena sativa*)

Frutto

Cariosside ovale lunga 2-3 cm, appuntita alle estremità, a sezione rotonda. E' rivestita di glume di colore variabile da bruno chiaro a bruno scuro secondo la varietà, con o senza arista, e fornite di lunghi tricomi ad una estremità.
Il pericarpo, di colore bruno chiaro, è vellutato per la presenza di abbondanti tricomi sparsi, lunghi e sottili; l'endosperma è bianco, farinoso; l'embrione è piccolo.

Derivati

Composizione
Farina: endosperma in parte polverizzato in parte in frammenti soffici, bianchi, alcuni con residui di pericarpo aderente di colore bruno chiaro; frammenti rettangolari di glume spesse, con superficie esterna liscia e lucida, sulla quale sono visibili numerosi stomi (assenti nell'orzo); abbondanti e lunghi tricomi, spesso aggregati tra di loro
Fiocchi: larghi frammenti bianchi laminari di cariossidi private delle glume, pressate e cotte, con residui di pericarpo aderente

Istologia
Glume: cellule dell'epidermide superiore allungate, con pareti spesse ondulate a zig zag, interrotte da numerosi stomi (assenti nell'orzo); tricomi unicellulari conici, corti, con pareti spesse, base arrotondata e lume cellulare largo
Pericarpo: cellule dell'epicarpo allungate con pareti porose; tricomi unicellulari, alcuni corti, altri lunghi fino a 2 mm, con base stretta e lume cellulare più stretto delle pareti

Endosperma: cellule dello strato aleuronico tondeggianti, con pareti sottili, e contenenti aleurone granulare; amido in piccoli granuli poligonali (ϕ 6-7 μm) con ilo centrale visibile in luce polarizzata, spesso riuniti in aggregati arrotondati di dimensioni variabili

1.1.1.2 Frumento tenero e duro (*Triticum aestivum, T. durum*), Farro (*Triticum dicoccum, T. monococcum*)

Frutto

Cariosside ovale lunga 6-8 mm, svestita nel frumento, saldata a sottili glume nel farro, a sezione ovoidale o triangolare con fenditura longitudinale profonda nel lato ventrale.
Il pericarpo è di colore rosato nel frumento tenero e nel farro, di colore crema nel frumento duro, e presenta un ciuffo di tricomi ad un apice. L'endosperma è bianco e farinoso nel frumento tenero e nel farro, di colore crema e vitreo nel frumento duro. L'embrione consistente è facilmente separabile dal resto della cariosside.

Derivati

Composizione
Crusche, cruschelli, tritelli: frammenti laminari di pericarpo, larghi nelle crusche, più piccoli nei cruschelli e nei tritelli, con superficie esterna opaca di colore rosato o crema, e con residui di endosperma farinoso o vitreo aderenti al lato interno; scarse quantità di endosperma polverizzato nelle crusche, quantità più consistenti nei cruschelli e nei tritelli; talvolta piccole quantità di embrioni frantumati
Farinette: endosperma polverizzato; scarsi residui di crusca e di embrioni
Germe: embrioni ovali, interi o spezzati, di colore crema, oleosi alla pressione; residui di crusca e di endosperma
Panello di germe: conglomerati di embrioni interi o spezzati, appiattiti, duri, privati dell'olio; piccole quantità residue di crusca e di endosperma
Glutine: polvere bianca, costituita da fini particelle di proteina solidificata dure, bianche o semitrasparenti (simili a particelle di endosperma di frumento duro, riso, sorgo)
Amido: polvere fine bianca non differenziata, costituita da amido praticamente puro
Amido gelatinizzato: polvere bianca non differenziata, costituita da amido trattato termicamente
Borlande di distillerie: v. 1.7.4 e 1.7.5

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo allungate con pareti spesse e porose; cellule trasversali disposte in colonne regolari affiancate, con pareti interamente porose (nel farro le pareti sono più sottili che nel frumento e nella parte terminale i pori sono quasi indistinti); tricomi unicellulari lunghi fino a 1 mm, con base allargata globulare e lume cellulare più stretto delle pareti
Endosperma: cellule dello strato aleuronico quadrangolari con pareti spesse, talvolta con residui di aleurone granulare giallo o bruno (nel T. monococcum con pigmento azzurro). Amido in granuli in parte biconvessi di forma circolare, larghi 25-35 µm, raramente 50 µm (5-25 µm nel T. monococcum), in parte piccoli anche poligonali (7-8 µm). L'ilo centrale è visibile in luce polarizzata, e la croce di polarizzazione è sfumata. I granuli più larghi talvolta mostrano anelli di accrescimento concentrici chiari e scuri alternati
Embrione: struttura a piccole cellule quadrangolari allineate in file
Amido gelatinizzato: granuli di amido aumentati di volume, incurvati, distorti, privi di croce di polarizzazione o con croce molto sfumata, che si colorano in rosso con Rosso Congo 0.5%. Eventuali granuli integri residui possono consentire l'identificazione della specie
Glutine: particelle tondeggianti, opache, prive di struttura, isotrope, spesso riunite in aggregati, e riconoscibili come materiale proteico per la colorazione bruna in soluzione di Lugol.
Residui occasionali di pericarpo e di granuli di amido sono sufficienti per l'identificazione della specie

1.1.1.3 Granoturco (*Zea mays*)

Frutto

Cariosside appiattita, tondeggiante o triangolare, di dimensioni molto variabili secondo la varietà.
Il pericarpo è coriaceo, semitrasparente; l'endosperma, giallo o bianco, è vitreo nella parte esterna, soffice e farinoso nella parte interna; l'embrione cospicuo è facilmente separabile dal resto della cariosside.
L'infiorescenza a spiga (tutolo), talvolta presente in tracce occasionali nei derivati, talvolta utilizzata a scopo di sofisticazione, è voluminosa, cilindrica. E' costituita da una zona esterna legnosa, nella quale sono inserite le glume fiorali, alcune spesse, altre membranacee, e da un midollo centrale spugnoso.

Derivati

Composizione
Crusca: lamine di pericarpo dure, semitrasparenti, incolori o rossastre, con striature parallele; residui di endosperma giallo

o bianco polverizzato o in frammenti vitrei; tracce di embrioni interi o spezzati di colore bruno chiaro; residui occasionali di glume, alcune in frammenti spessi e coriacei, di colore giallino, altre in forma di sottili pellicole rosse
Farinetta: endosperma polverizzato di colore giallo-grigio; residui di crusca e di embrioni; tracce di glume
Semola: frammenti di endosperma vitreo, con tracce occasionali di crusca e di embrioni spezzati
Fiocchi: larghi frammenti laminari di cariossidi pressate e cotte di colore giallo, con residui occasionali di crusca
Germe: embrioni allungati ovali, interi o spezzati, di colore giallino o bruno chiaro, oleosi alla pressione; residui di crusca e di endosperma
Scarti e rotture: insieme disomogeneo di cariossidi spezzate e di frammenti di crusca, con tracce di tutoli, di glume fiorali e di embrioni.
Panello, Farina di estrazione di germe: conglomerati irregolari di residui di embrioni privati dell'olio di colore bruno chiaro o scuro, appiattiti, duri; piccole quantità residue di crusca e di endosperma
Glutine: polvere gialla costituita da sferette di proteina solidificata, di colore giallo oro, dure e opache, con scarsi residui di crusca annerita
Farina glutinata: miscela di particelle gialle di glutine, di frammenti di crusca annerita, alcuni isolati, altri inglobati nel glutine, con tracce di endosperma annerito
Amido, Fecola: polveri finissime bianche non differenziate, costituite da amido praticamente puro
Amido gelatinizzato: polvere bianca non differenziata, costituita da amido trattato termicamente
Tutolo macinato: frammenti arrotondati, grossolani, durissimi, di colore crema (zona esterna); frammenti bianchi, bucherellati, soffici (zona midollare); glume come in Crusca
Residui di distillerie: v. 1.7.4 e 1.7.5

Istologia
Glume: nelle glume più consistenti l'epidermide esterna è formata da cellule allungate con pareti diritte, spesse e porose miste a cellule con pareti sottili lisce; nelle glume sottili le cellule dell'epidermide sono allungate, con pareti sottili ondulate
Pericarpo: cellule dell'epicarpo e dell'ipoderma molto allungate, con pareti spesse e porose
Endosperma: cellule dello strato aleuronico poligonali, con pareti sottili, con residui di aleurone granulare; amido in granuli poligonali (parte vitrea) o leggermente tondeggianti (parte farinosa), di dimensioni uniformi (10-25 μm), con ilo centrale marcato, puntiforme o fessurato, e croce di polarizzazione distinta
Embrione: struttura a piccole cellule poligonali, alcune allungate con nucleo visibile marcato
Tutolo: sclereidi allungate o isodiametriche (zona esterna); cellule larghe isodiametriche con pareti sottili (midollo); tricomi uni o pluricellulari, lisci o punteggiati, con lume largo

Glutine: sferette opache, gialle, prive di struttura, isotrope, riconoscibili come materiale proteico per la colorazione bruna in soluzione di Lugol. Residui occasionali di pericarpo e di granuli di amido sono sufficienti per l'identificazione della specie
Amido gelatinizzato: v. Frumento (1.1.1.2)

1.1.1.4 Miglio (*Panicum miliaceum*)

Frutto

Cariosside tondeggiante larga circa 2 mm, rivestita di glume coriacee, lisce, di colore crema.
Il pericarpo è sottile, di colore crema; l'endosperma è bianco farinoso; l'embrione è minuto.

Derivati

Composizione
Farina: endosperma bianco polverizzato; frammenti di glume dure, lucide, di colore crema; fini particelle di pericarpo

Istologia
Glume: cellule dell'epidermide superiore isodiametriche o leggermente allungate, con pareti spesse, profondamente ondulate con sinuosità multiple
Endosperma: amido in granuli poligonali (ϕ 18 μm) con ilo puntiforme

1.1.1.5 Orzo (*Hordeum vulgare*)

Frutto

Cariosside ovale lunga 1.5-2 cm, appuntita ad una estremità e rigonfia nella parte centrale, a sezione pentagonale, con coste rilevate longitudinali. E' rivestita di glume di colore giallo-grigio, fornite di tricomi abbondanti ad una estremità.
Il pericarpo è sottile, di colore crema o grigio-azzurro; l'endosperma è bianco, compatto; l'embrione è piccolo.

Derivati

Composizione
Farina: endosperma bianco, in parte polverizzato, in parte in frammenti compatti arrotondati con residui di glume e di pericarpo aderenti; frammenti triangolari di glume sottili, con superficie esterna liscia e opaca, priva di stomi

Fiocchi: frammenti laminari di cariossidi private delle glume, pressate e cotte, di colore bianco-grigio, con residui di pericarpo grigio-azzurro aderenti
Borlande di birrerie: v. 1.7.2
Radichette di malto: v. 1.7.3
Residui di distillerie: v. 1.7.4 e 1.7.5

Istologia
Glume: cellule dell'epidermide superiore allungate, strette, con pareti spesse a ondulazioni larghe, interrotte da piccole cellule rotonde, senza stomi
Pericarpo: cellule trasversali dell'ipoderma, disposte in colonne regolari affiancate, con pareti non porose; tricomi unicellulari lunghi fino a 300 µm, con base arrotondata e lume cellulare più largo delle pareti
Endosperma: cellule dello strato aleuronico (più piccole di quelle del frumento e della segale) con contenuto giallo chiaro, azzurro in alcune varietà; amido in granuli in parte ellittici, larghi 20-35 µm, in parte circolari e più piccoli (0 2-6 µm) molto più numerosi che nel frumento, con ilo centrale o leggermente eccentrico, spesso non visibile, talvolta puntiforme o fessurato a ipsilon, con croce di polarizzazione sfumata

1.1.1.6 Riso (*Oryza sativa*)

Frutto

Cariosside ovale, a sezione ovale, di dimensioni variabili secondo la varietà. E' rivestita di glume (lolla) di colore bruno chiaro o scuro, spesse e ruvide, con superficie esterna reticolata da nervature longitudinali molto rilevate e da nervature trasversali meno marcate, e provvista di tricomi silicei duri, appuntiti. La cariosside svestita è di colore bianco argenteo traslucido ed è marcata da coste longitudinali parallele.
Il pericarpo è molto sottile; l'endosperma è bianco, vitreo; l'embrione consistente è facilmente separabile dal resto della cariosside.

Derivati

Composizione
Lolla: frammenti irregolari di glume, con caratteristica reticolazione quadrettata. Si colorano in rosso-violaceo con Floroglucina cloridrica
Pula, farinaccio: sottili lamine di pericarpo di colore bruno chiaro o rossastro; endosperma polverizzato o in frammenti bianchi, duri, vitrei (più abbondante il pericarpo nella pula, più

abbondante l'endosperma nel farinaccio); frammenti di embrioni di colore crema; scarsi frammenti di lolla
Puletta: miscela di lolla macinata e di elementi costitutivi della pula e del farinaccio
Germe (gemma): embrioni ovali, interi o spezzati, di colore crema, oleosi alla pressione
Panello, Farina di estrazione di germe: conglomerati irregolari di residui di embrioni privati dell'olio, appiattiti, duri, interi o spezzati, con residui di pericarpo, di endosperma e di lolla
Rotture: cariossidi spezzate o di scarto
Glutine: polvere bianca costituita da fini particelle di proteina solidificata, dure, semitrasparenti
Amido, Fecola: polveri finissime bianche non differenziate costituite da amido praticamente puro
Amido gelatinizzato: polvere bianca non differenziata, costituita da amido trattato termicamente

Istologia
Glume: le cellule dell'epidermide superiore sono larghe e allungate, e hanno pareti lignificate spesse e profondamente ondulate da ripiegature multiple; sono disposte in file longitudinali e sono interrotte da tricomi conici diritti, appuntiti, con lume largo
Pericarpo: cellule dell'epicarpo allungate, molto trasparenti, con pareti diritte nelle parti laterali e ondulate nelle parti terminali
Endosperma: cellule dello strato aleuronico poligonali, con pareti sottili; amido in piccoli granuli poligonali (ϕ 3-5 μm) con ilo centrale puntiforme difficilmente visibile o visibile in luce polarizzata, spesso in aggregati angolari di 3 o più granuli
Glutine: v. glutine di frumento (1.1.1.2)
Amido gelatinizzato: v. Frumento (1.1.1.2)

1.1.1.7 Segale (*Secale cereale*)

Frutto

Cariosside svestita, lunga 6-8 mm, affusolata e appuntita ad una estremità, con fenditura longitudinale profonda nel lato ventrale.
Il pericarpo è sottile, grinzoso, di colore bruno, grigio o verde-azzurro, ed è fornito di un ciuffo di tricomi ad un apice; l'endosperma è farinoso, di colore verde-azzurro nella parte esterna, bianco puro all'interno; l'embrione è piccolo.

Derivati

Composizione
Crusca, Cruschello: frammenti laminari di pericarpo, larghi nella crusca, più piccoli nel cruschello, con superficie esterna grin-

zosa, opaca, verdognola, e con residui di endosperma bianco e verde-azzurro aderenti alla superficie interna; endosperma polverizzato o in frammenti arrotondati; piccole quantità di embrioni frantumati
Farinetta: tutte le parti della cariosside polverizzata

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo allungate con pareti sottili fornite di pori indistinti; cellule trasversali disposte in colonne regolari affiancate, con pareti sottili e leggermente porose nelle parti laterali, spesse e lisce nelle parti terminali; tricomi unicellulari con base arrotondata e lume cellulare più largo delle pareti
Endosperma: cellule dello strato aleuronico poligonali, alcune con contenuto giallo, altre con contenuto azzurro; amido in granuli per la maggior parte sferoidali, larghi fino a 50 µm, in parte più piccoli e rotondi, con ilo spesso visibile, centrale, puntiforme o fessurato a stella (il 10% circa dei granuli più larghi di 10 µm presenta ilo stellato)

1.1.1.8 Sorgo (*Sorghum vulgare*)

Frutto

Cariosside ovoidale o sferica o appuntita alle estremità, di dimensioni variabili (4-6 o più mm), svestita o rivestita di glume consistenti di vari colori (giallo, bruno, rosso), secondo le varietà, e di sottili glume rossicce.
Il pericarpo è sottile, variamente colorato; il perisperma, contrariamente alle altre Graminacee, è consistente, di colore giallo o bruno; l' endosperma bianco è in massima parte vitreo; l'embrione è piccolo.

Derivati

Composizione
Farina: endosperma bianco, generalmente in frammenti bianchi semitrasparenti, alcuni con residui di pericarpo/perisperma aderente rosso/giallo/bruno; frammenti di glume coriacee, abbondanti nelle varietà a seme vestito, di forma convessa e variamente colorate, con superficie esterna liscia e lucida; altre glume sottili e membranacee
Farina glutinata: polvere disomogenea costituita da particelle irregolari di proteina solidificata di colore bruno scuro, abbastanza dure alla pressione, e da residui di glume e di pericarpo

Istologia
Glume: nelle glume consistenti l'epidermide esterna è formata da cellule allungate con pareti spesse e ondulate; nelle glume sot-

tili le cellule dell'epidermide sono allungate, con pareti sottili e ondulate
Perisperma: uno strato di cellule quadrangolari contenenti pigmento rosso, arancio o giallo
Endosperma: amido in granuli poligonali larghi fino a 30 µm, con ilo centrale fessurato

1.1.2 Poligonacee

Alla famiglia appartiene il Grano saraceno, specie commercialmente considerata tra i Cereali per l'attitudine alla panificazione del seme che, strutturalmente e chimicamente, è simile alla cariosside delle Graminacee.

1.1.2.1 Grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*)

Frutto

Frutto triangolare, lungo 4-6 mm, con pericarpo (guscio) coriaceo, di colore grigio variegato di bruno, staccato dal seme.
Il seme comprende: testa sottile; endosperma amilaceo abbondante, bianco e farinoso; embrione piccolo con due sottili cotiledoni piatti.

Viene utilizzato il seme macinato, generalmente privato del pericarpo.

Gli elementi istologici più utili sono: epicarpo; amido.

Derivati

Composizione
Farina: prodotto non troppo raffinato di colore crema o bruno chiaro. Contiene: endosperma polverizzato di colore bianco puro; sottili pellicole del testa giallo-verdi o brune; residui di pericarpo laminari, bruni, sottili e duri, con superficie esterna liscia e lucida

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo allungate con pareti fornite di punteggiature a spirali reticolate; parenchima con contenuto bruno
Testa: cellule dell'epidermide allungate con pareti ondulate; parenchima spugnoso con granuli di clorofilla o pigmento bruno
Endosperma: uno strato aleuronico di cellule poligonali, simili a quelle dei cereali; amido in piccoli granuli poligonali (ϕ medio

9 µm), riuniti in masse compatte che mantengono la forma delle cellule, o in aggregati di forma ovale allungata nei quali i granuli sono arrotondati

1.2 Frutti/semi oleosi e derivati

1.2.1 Composite

Il "seme" commerciale delle Composite è un frutto costituito da un pericarpo lignificato (guscio) e da un seme oleoso.
Il pericarpo è variamente pigmentato; testa e endosperma del seme sono sottili, saldati insieme a formare una leggera pellicola; l'embrione abbondante comprende due cotiledoni oleoproteici.

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il frutto completo, oppure il seme privato del pericarpo. I sottoprodotti contengono residui di semi e frammenti di gusci, più o meno abbondanti secondo il grado di decorticazione.

Istologia del frutto
Pericarpo: epicarpo di cellule ovali allungate; ipoderma di cellule di varie forme; in alcune specie, uno strato non cellulare di pigmento (fitomelano) variamente distribuito; vari strati di fibre e sclereidi; parenchima compresso
Testa: epidermide superiore di cellule allungate con pareti punteggiate; il resto, tessuto non differenziato
Endosperma e embrione: piccole cellule poligonali contenenti olio e proteina
Gli elementi più utili ai fini dell'identificazione sono: epicarpo; ipoderma; presenza o assenza di pigmento; epidermide del testa.

1.2.1.1 Cartamo (*Carthamus tinctoris*)

Frutto

Frutto ovoidale o piriforme, lungo 1.5-2 cm, con pappo ad un apice.
Il pericarpo è legnoso, di colore grigio chiaro o crema. Testa e endosperma del seme formano una lamina perlacea che avvolge l'embrione di colore crema.

Derivati

Composizione
Farina di estrazione: residui, di colore bruno chiaro, di embrioni polverizzati; sottili pellicole perlacee (testa ed

endosperma); quantità variabili di frammenti grossolani di pericarpo spessi e duri, con superficie esterna liscia e lucida di colore bruno chiaro e con zona interna bianca fibrosa.

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo ovali, allungate (130 µm), senza pigmento e senza tricomi, con pareti spesse, talvolta punteggiate; sclereidi irregolari, alcune allungate fino a 150 µm; fitomelano assente
Testa: cellule dell'epidermide larghe, con pareti punteggiate da ampie aperture lenticolari

1.2.1.2 Girasole (*Helianthus annuus*)

Frutto

Frutto ovoidale, appuntito alla base e arrotondato alla sommità, a sezione quadrangolare, lungo fino a 2 cm.
Il pericarpo è fibroso, bianco o nero o striato in senso longitudinale, secondo la varietà. Testa e endosperma del seme formano una pellicola argentea che avvolge l'embrione bianco.

Derivati

Composizione
Farina di estrazione: residui grigi di embrioni polverizzati; fragili lamine argentee (testa e endosperma); quantità variabili di frammenti di pericarpo spessi, rettangolari, con superficie esterna rugosa bianca o variamente pigmentata in nero e con zona interna bianca fibrosa.

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo ovali allungate (fino a 200 µm), con pareti porose, con o senza pigmento nero; tricomi unicellulari appaiati lunghi fino a 500 µm, interi o spezzati; cellule dell'ipoderma molto regolari, quadrangolari, con pareti punteggiate; uno strato non cellulare di pigmento nero (fitomelano) disposto a striscie longitudinali; fibre diritte, fittamente punteggiate, lunghe fino a 800 µm, larghe 25 µm, isolate o in gruppi

1.2.1.3 Neuk (*Guizotia abyssinica*)

Frutto

Frutto ovoidale, lungo 5 mm.
Il pericarpo è sottile, fibroso, nero. Testa e endosperma del seme formano una sottilissima pellicola perlacea che avvolge l'embrione bianco.

Derivati

Composizione
Panello: residui grigi di embrioni polverizzati; frammenti di pericarpo lunghi e stretti, neri sottili e fragili, con superficie esterna liscia e lucida

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo allungate con pareti lisce, senza pigmento e senza tricomi; cellule dell'ipoderma a forma di tibia, lunghe 20-50 μm e larghe 10 μm, disposte a palizzata, pigmentate in nero; strato non cellulare di pigmento nero (fitomelano) disposto a strisce longitudinali discontinue
Testa: cellule dell'epidermide con pareti profondamente ondulate, alcune con punteggiature allungate

1.2.2 Crucifere

Il seme delle Crucifere comprende: testa (buccia) sottile, a volte mucillaginoso, più o meno reticolato secondo là specie o varietà; endosperma non evidente; embrione consistente con due cotiledoni oleoproteici nei quali sono localizzati principi attivi (glucosinolati) responsabili delle proprietà tossiche dei semi di alcune specie e dei loro sottoprodotti (v. 1.8.2).

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il seme completo. I sottoprodotti contengono residui di tutte le parti del seme cementate insieme.

Istologia del seme
Testa: epidermide superiore di cellule poligonali, talvolta con mucillagine; ipoderma poco evidente; uno strato di cellule disposte a palizzata; parenchima compresso, a volte pigmentato
Endosperma: parenchima non differenziato
Embrione: piccole cellule poligonali contenenti olio e proteina
Gli elementi istologici più utili ai fini dell'identificazione sono: presenza/assenza di mucillagine nell'epidermide superiore del testa; cellule a palizzata del testa.
Le cellule a palizzata hanno pareti spesse, incolori o pigmentate, e altezza variabile secondo la specie o varietà. Viste dall'alto sono poligonali, con lume cellulare di ampiezza variabile rispetto alla doppia parete di due cellule contigue. La variabilità nell'altezza, che produce la reticolazione alla superficie del seme, è un carattere altamente specifico visibile in sezione radiale: disponendo di semi interi, è utile eseguire sezioni sottili del testa; nei materiali frantumati, è utile ricercare nei preparati le particelle del testa orientate in modo da produrre un effetto di sezione.

1.2.2.1 Colza (*Brassica napus*)

Seme

Seme sferico (ϕ 2-3 mm) con testa sottile di colore bruno rossiccio o grigio scuro, a reticolazione poco marcata, con ilo piatto.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione: particelle dure, giallastre, di residui di embrioni che inglobano numerosi frammenti di bucce sottili, di colore bruno scuro, con superficie esterna rugosa

Istologia
Testa: mucillagine assente; cellule a palizzata pigmentate in bruno scuro, larghe 15-30 μm, di altezza uniforme (25 μm), con lume cellulare uguale o più largo della doppia parete

1.2.2.2 Colza indiana (*Brassica campestris Sarson*)

Seme

Seme irregolarmente sferico e leggermente appiattito, lungo 2-3 mm, con testa giallo/bruno, secondo la varietà, a reticolazione leggermente più evidente che nella colza, con ilo piatto.

Derivati

Composizione
Come Colza

Istologia
Testa: mucillagine assente; cellule a palizzata incolori, larghe 12-25 μm, di altezza poco variabile (25 μm), con lume cellulare più stretto della doppia parete

1.2.2.3 Ravizzone (*Brassica campestris*)

Seme

Seme sferico (ϕ 2 mm) con testa bruno-nero a reticolazione più evidente che nella colza, con ilo piatto.

Derivati

Composizione
Come Colza

Istologia
Testa: mucillagine assente; cellule a palizzata pigmentate in bruno scuro, larghe fino a 20 µm, di altezza non del tutto uniforme (max 35 µm), con lume cellulare uguale o più stretto della doppia parete

1.2.3 Leguminose

Il seme delle Leguminose, contenuto in un pericarpo (baccello) fibroso, comprende: testa (buccia) più o meno consistente, con ilo marcato; endosperma non evidente; embrione con due cotiledoni molto sviluppati, oleoproteici o amilacei, secondo la specie.

Per l'estrazione dell'olio dalle specie oleose viene utilizzato il seme completo, più o meno privato del pericarpo, oppure il seme privato della buccia. I sottoprodotti sono costituiti da residui di semi, con o senza bucce, cui possono essere associati residui occasionali di baccelli.

Istologia del seme
Testa: cellule dell'epidermide superiore generalmente disposte a palizzata; ipoderma di cellule a clessidra, o colonnari o prismatiche; epidermide inferiore poco evidente e non differenziata
Endosperma: tessuto non differenziato
Embrione: cotiledoni con epidermide di cellule isodiametriche o ellittiche, variamente disposte; mesofillo di cellule parenchimatiche contenenti olio e proteina oppure amido, secondo la specie
Gli elementi più utili ai fini dell'identificazione sono: cellule a palizzata dell'epidermide superiore e cellule dell'ipoderma del testa; contenuti cellulari dei cotiledoni.
Le cellule dell'ipoderma costituiscono un carattere altamente specifico, ma essendo strettamente saldate agli altri tessuti, in alcune specie sono raramente isolate e visibili. Per favorirne il distacco è utile allestire preparati con sodio idrato al 5%.

1.2.3.1 Arachide (*Arachis hypogea*)

Seme

Seme sferico o cilindrico, lungo 10-20 mm.
Il testa, rosso mattone o rosso viola, e l'endosperma giallo sono saldati insieme a formare una sottile membrana; i cotiledoni, di colore bruno chiaro, sono oleoproteici.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione: particelle bianche arrotondate di cotiledoni inglobanti sottili pellicole con superficie rosso-viola in un lato, gialla nell'altro; quantità variabili di frammenti di baccelli fibrosi, spugnosi, di colore crema, bruno chiaro o giallo, con larga reticolazione irregolare di nervature rilevate sulla superficie esterna

Istologia
Pericarpo: fibre dell'ipoderma di varie forme bi e triforcute, allungate, con pareti spesso fittamente punteggiate, isolate o disposte in gruppi incrociati tra loro
Testa: l'epidermide superiore, atipica rispetto a quella delle altre Leguminose, non ha cellule a palizzata bensì cellule tondeggianti, larghe 40-50 µm, con pareti spesse e porose che presentano profonde sinuosità appuntite nel lato interno, con effetto di frangia
Cotiledoni: cellule del mesofillo larghe, con pareti spesse e porose, contenenti aleurone, residui di olio e talvolta piccoli granuli sferici di amido con ilo centrale visibile

1.2.3.2 Soia (*Glycine max*)

Seme

Seme ovoidale o sferico, lungo 12 mm circa, con ilo ovale centrale evidente e distinto.
Il testa, generalmente di colore crema uniforme, in alcune varietà può essere verde, bruno o nero, uniforme o variegato; l'ilo è bruno scuro; i cotiledoni, di colore crema, sono oleoproteici.

Derivati

Composizione
Semi tostati: semi interi o spezzati trattati termicamente, più o meno privati della buccia. Hanno i medesimi caratteri esterni dei semi non trattati, dai quali possono essere differenziati con saggio enzimatico (v.parte I, 10.7)
Farina di estrazione: particelle di cotiledoni arrotondate, con aspetto ceroso, traslucide, dure, di colore crema o bruno chiaro; quantità variabili di frammenti di bucce arrotolate di colore crema, con superficie esterna punteggiata da leggere depressioni e con superficie interna spugnosa (simili alle bucce dei piselli); frammenti di ilo di colore bruno scuro
Panello: conglomerati di embrioni, di bucce e di ilo, di forme irregolari, più spigolosi che arrotondati. Nell'insieme, il panello è di colore più scuro della farina di estrazione

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide a palizzata, alte 40-60 µm, con parte terminale piatta, isolate o in gruppi; cellule dell'ipoderma a clessidra alte 30-75 µm, talvolta isolate. Visti dall'alto, i frammenti del testa appaiono grigi, poco trasparenti e disseminati di macchie nere ovali o raggiate, corrispondenti al lume cellulare delle cellule a palizzata nel lato terminale
Cotiledoni: cellule del mesofillo ovali, strette e allungate, con pareti lisce, e contenenti: aleurone granulare, cristallini bipiramidali di ossalato di calcio, talvolta residui di olio e, in alcune varietà, piccoli granuli sferici di amido con ilo centrale evidente

1.2.4 Linacee

1.2.4.1 Lino (*Linum usitatissimum*)

Seme

Seme ovale, lenticolare, piatto, appuntito ad una estremità, lungo 4-6 mm.
Il testa (buccia) è sottile, lucido, di colore variabile da giallo a bruno scuro uniforme o variegato; l'endosperma e l'embrione, che comprende due cotiledoni, sono entrambi consistenti, oleosi, di colore giallo scuro.
Contiene il glucoside cianogenetico linamarina.

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il seme completo.

Gli elementi istologici più utili sono i tessuti del testa.

Derivati

Composizione
Farina di estrazione: frammenti di bucce scolorite, quasi opache; residui polverizzati delle altre parti del seme, di colore crema
Panello: conglomerati irregolari, appiattiti, di residui di endosperma e di embrioni, di colore bruno chiaro, inglobanti frammenti di bucce con superficie inalterata. Nell'insieme, il panello è più scuro della farina di estrazione.

Istologia
Testa: cellule dell' epidermide con mucillagine; cellule parenchimatiche rotonde; fibre lunghe fino a 300 µm, disposte in gruppi affiancati alternati; cellule allungate, disposte in senso trasversale rispetto alle fibre; cellule poligonali contenenti pigmento solido rosso bruno che nei preparato in acqua fuoriesce dalle pareti cellulari in forme poligonali

I tessuti del testa, abbastanza trasparenti, sono strettamente saldati insieme e nei frammenti è spesso visibile la successione degli strati cellulari che forma una combinazione altamente caratteristica
Endosperma, Embrione: tessuti non differenziati

1.2.5 Malvacee

1.2.5.1 Cotone (*Gossypium herbaceum*)

Seme

Seme ovoidale o piriforme lungo 12 mm, rivestito di abbondanti tricomi, alcuni lunghi fino a 5 cm (che costituiscono la fibra tessile), altri più corti, che formano una lanugine bianca.
Il testa (guscio) è consistente, fibroso, di colore bruno scuro o rosso o nero, secondo la varietà; l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due cotiledoni abbondanti bianchi, oleosi, nei quali è localizzato il pigmento tossico gossipolo.

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il seme privato delle fibre più lunghe e di parte dei gusci. I sottoprodotti contengono residui di tutte le parti del seme e quantità variabili di fibre.

Gli elementi istologici più utili sono: epidermide e sclereidi a palizzata del testa; tricomi (fibre) del testa e tricomi dell'epidermide dei cotiledoni; residui di gossipolo.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione: residui di embrioni polverizzati di colore bruno; quantità variabili di frammenti di gusci convessi, spessi, con superficie esterna rugosa, di colore da giallo a bruno; lunghe fibre bianche, isolate o riunite in agglomerati, o aderenti ai gusci, o inglobate nelle altre particelle.
Residui di gossipolo possono essere evidenziati nei frammenti dei cotiledoni con acido solforico concentrato, nel quale il pigmento si scioglie con formazione di punti colorati in rosso.

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide superiore con pareti spesse a ondulazioni larghe (viste dall'alto hanno aspetto convoluto), contenenti pigmento nero; frammenti di tricomi unicellulari piatti, arrotolati, con pareti cellulosiche molto più sottili del lume cellulare; sclereidi allungate, di forma prismatica, alte fino a 150 µm, disposte a palizzata
Perisperma: piccole cellule con pareti frangiate

Cotiledoni: cellule dell'epidermide con stomi e con tricomi corti, ovali, pluricellulari; mesofillo parenchimatico con larghe cavità, originariamente contenenti il gossipolo

1.2.6 Oleacee

1.2.6.1 Olivo (*Olea europea*)

Frutto

Frutto ovale o tondo, lungo 2-3 cm.
Il pericarpo è formato da: epicarpo (buccia) sottile di colore verde, bianco, bluastro, rosso o nero, secondo la varietà; mesocarpo (polpa) abbondante oleoso; endocarpo (nocciolo) molto spesso, legnoso, che racchiude il seme. Il seme comprende: testa e endosperma sottili; un piccolo embrione con due cotiledoni piatti.

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il frutto completo. Il sottoprodotto destinato all'alimentazione degli animali viene privato il più possibile dei noccioli.

Gli elementi istologici più utili sono: sclereidi del meso e endocarpo; epidermide del testa.

Derivati

Composizione
Sansa: residui di polpa polverizzata olivastra; frammenti di bucce olivastre sottili, arrotolate, rugose; noccioli polverizzati o in frammenti duri, arrotondati, di colore crema.

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo poligonali con contenuto granulare; sclereidi del mesocarpo incolori di forme grottesche, variamente ramificate, lunghe fino a 200 μm; sclereidi dell'endocarpo incolori, di varie forme e dimensioni, alcune allungate fino a 160 μm, con pareti molto spesse e porose
Testa: cellule dell'epidermide larghe fino a 90 μm, con pareti rigonfie di colore giallino; parenchima con pigmento bruno, con minuti prismi di ossalato di calcio e con tessuto vascolare abbondante
Endosperma, Embrione: tessuti non differenziati

1.2.7 Palme

La "noce" commerciale delle Palme è costituita dall'endocarpo (guscio) del frutto e dal seme.

L'endocarpo è lignificato. Il seme comprende: testa più o meno consistente; endosperma abbondante oleoso, saldato al testa; embrione piccolo con un solo cotiledone.

Per l'estrazione dei grassi la noce viene privata dell'endocarpo. I sottoprodotti contengono residui di semi più o meno polverizzati e frammenti di gusci in quantità variabili secondo il grado di decorticazione.

Istologia generale della noce
Endocarpo: più strati di sclereidi, di varie forme e dimensioni, pigmentate o incolori
Testa: più strati di cellule di varie forme, talvolta con pigmento
Endosperma: larghe cellule, in parte isodiametriche in parte rettangolari, contenenti olio o grassi e granuli di aleurone
Embrione: piccole cellule poligonali contenenti olio e proteina
Gli elementi istologici più utili ai fini dell'identificazione sono: sclereidi dell'endocarpo; cellule dell'endosperma.

1.2.7.1 Babassu (*Orbignya oleifera*)

Noce

Noce oblunga (3-5 x 1-2 cm) con curvatura ad una estremità.
L'endocarpo è legnoso, durissimo; il testa è sottile bruno scuro; l'endosperma è bianco.

Derivati

Composizione
Panello: residui di semi polverizzati di colore bruno chiaro; endocarpo praticamente assente

Istologia
Testa: cellule della zona esterna molto allungate, talvolta con residui di pigmento
Endosperma: cellule rettangolari lunghe 60-160 μm, larghe 50 μm, in massima parte con pareti lisce, alcune con pareti punteggiate da aperture circolari larghe fino a 14 μm, talvolta con residui di olio e di aleurone e con cristalli di ossalato di calcio

1.2.7.2 Cocco (*Cocos nucifera*)

Noce

Noce di forma ovale o tondeggiante, larga oltre 10 cm.
L'endocarpo è spesso, fibroso, di colore bruno; il testa è consistente, irregolarmente striato sulla superficie esterna, di colore bruno; l'endosperma è bianco.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione (copra): residui di semi in parte polverizzati, in parte in frammenti soffici, spugnosi, di colore rosato; rari frammenti di endocarpo piatti, duri, di colore bruno

Istologia
Endocarpo: sclereidi, talvolta con residui di pigmento bruno, con pareti leggermente ispessite, pigmentate in giallo/bruno, per la maggior parte lunghe e appiattite e disposte in gruppi variamente orientati (le sclereidi dello stesso gruppo sono allungate nella medesima direzione); tessuto vascolare abbondante
Testa: cellule della zona esterna fusiformi, lunghe fino a 130 µm e larghe 40 µm, disposte in varie direzioni, con pareti brune punteggiate; cellule della zona interna isodiametriche con pareti lisce e con contenuto bruno
Endosperma: cellule rettangolari lunghe da 160 a 300 µm, larghe 40 µm, spesso deformate, con pareti sottili lisce, talvolta contenenti residui di aleurone granulare, cristalloidi proteici larghi oltre 25 µm, gocce di olio oppure grasso cristallizzato in masse raggiate, birifrangenti, visibili in luce polarizzata

1.2.7.3 Macoya (*Acrocomia sclerocarpa*)

Noce

Noce sferoidale, larga 2-3 cm.
L'endocarpo è legnoso; il testa è sottile, di colore giallo; l'endosperma è bianco.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione: residui di semi decorticati, polverizzati o in frammenti irregolari, fibrosi, soffici, di colore giallognolo; endocarpo praticamente assente.

Istologia
Testa: cellule esterne isodiametriche con pareti finemente punteggiate; cellule interne pigmentate
Endosperma: cellule rettangolari con pareti sottili e lisce, simili a quelle del Cocco, benché di lunghezza inferiore (in media 80 µm)

1.2.7.4 Palmisti (*Elaeis guinaeensis*)

Noce

Noce di forma ovale irregolare, con uno o più lati piatti, lunga 2-3 cm.
L'endocarpo è spesso, legnoso, di colore bruno o nero; il testa è sottile, di colore bruno scuro variegato di grigio; l'endosperma è corneo, bianco o grigio.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione: residui grigiastri di semi polverizzati; abbondanti frammenti di endocarpo arrotondati, durissimi, di colore bruno scuro

Istologia
Endocarpo: sclereidi generalmente isodiametriche, larghe in media 35 µm, raramente allungate (60x20 µm), con pareti molto spesse, punteggiate, e con lume cellulare stretto contenente residui di pigmento bruno, isolate o in gruppi
Testa: cellule della zona esterna allungate, con pareti brune, disposte irregolarmente
Endosperma: cellule rettangolari (in media 130 x 45 µm), con pareti punteggiate da aperture circolari larghe fino a 14 µm, talvolta con residui di aleurone granulare, cristalloidi proteici larghi fino a 25 µm, gocce di olio oppure grasso cristallizato in masse raggiate birifrangenti, visibili in luce polarizzata

1.2.8 Pedaliacee

1.2.8.1 Sesamo (*Sesamum indicum*)

Seme

Seme piriforme, appiattito, lungo 3 mm.
Il testa (buccia) è sottile, bruno o bianco secondo le varietà; l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due cotiledoni abbondanti oleosi.

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il seme completo. I sottoprodotti contengono residui di tutte le parti del seme polverizzato.

Il tessuto più utile ai fini dell'identificazione è l'epidermide del testa.

Derivati

Composizione
Panello, Farina di estrazione: residui di embrioni grigi polverizzati di colore crema; frammenti laminari di bucce con superficie esterna leggermente venata di bruno o di grigio

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide disposte a palizzata, alte 30-40 µm, viste dall'alto di forma poligonale, originariamente contenenti ciascuna una drusa di ossalato di calcio
Endosperma: larghe cellule parenchimatiche con piccoli granuli di aleurone e talvolta cristalli raggiati di grassi residui visibili in luce polarizzata
Embrione: tessuti non differenziati

1.2.9 Sterculiacee

1.2.9.1 Cacao (*Theobroma cacao*)

Seme

Il seme è ovale, lungo fino a 30 mm.
Nel seme commerciale fermentato il testa (guscio) si è indurito ed ha assunto un colore rossiccio o bruno; l'endosperma è poco evidente; l'embrione comprende due cotiledoni abbondanti untuosi, friabili, profondamente fessurati.
Nel guscio è localizzato l'alcaloide teobromina.

Per l' estrazione dei grassi viene utilizzato il seme privato del guscio. I sottoprodotti sono costituiti da residui di embrioni misti a frammenti di gusci, oppure da soli gusci spezzati.

Gli elementi istologici più utili sono i tessuti del testa e i tricomi dei cotiledoni.

Derivati

Composizione
Gusci: frammenti piatti, rugosi, friabili, di colore bruno violaceo; sottili pellicole chiare di endosperma
Farina di estrazione: residui di embrioni polverizzati di colore bruno scuro; frammenti di gusci

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide allungate (30-200 µm); larghe cellule ovali (100 µm x 1mm) con mucillagine; parenchima spugnoso

bruno con tessuto vascolare abbondante; sclereidi isodiametriche, larghe 25 µm, con pareti molto spesse
Cotiledoni: epidermide con tricomi ovali, corti, pluricellulari; il resto, parenchima non differenziato

1.2.10 Vitacee

1.2.10.1 Uva (*Vitis vinifera*)

Seme

Seme piriforme di colore bruno, lungo 5-6 mm, con due profonde infossature nel lato ventrale, commercialmente denominato vinacciolo.
Il testa (guscio) è spesso e legnoso; l'endosperma abbondante è vitreo, compatto, oleoproteico; l'embrione minuto comprende due cotiledoni oleosi.

Per l'estrazione dell'olio viene utilizzato il seme completo. Il sottoprodotto viene talvolta sottoposto a processi di defibrizzazione.

GLi elementi istologici più utili sono: sclereidi e cellule laticifere del testa; granuli di aleurone dell'endosperma; cristalli di ossalato di calcio.

Derivati

Composizione
Farina di estrazione: frammenti di gusci di colore bruno scuro violaceo, con superficie esterna rugosa, che visti in sezione mostrano distinzione tra zona esterna tenera e zona interna dura; residui bruni polverizzati delle altre parti del seme.

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide superiore allungate (30x60 µm) con pareti porose; cellule parenchimatiche contenenti rafidi di ossalato di calcio, singoli o in fasci; sclereidi pigmentate in bruno, allungate fino a 1 mm, alcune con un singolo cristallo di ossalato a forma di diamante; cellule laticifere rettangolari con pareti punteggiate da aperture a rombo, con effetto di grata; cellule dell'epidermide inferiore con pareti pigmentate in bruno chiaro e finemente punteggiate
Endosperma: piccole cellule isodiametriche con pareti sottili, con granuli di aleurone contenenti cristalloidi proteici, larghi globoidi e druse di ossalato di calcio

1.3 Legumi

Per i caratteri generali del seme delle Leguminose v. 1.2.3.

1.3.1 Cece (*Cicer arietinum*)

Seme
Seme di forma irregolare, tondeggiante, largo 1-1.5 cm, di colore crema, rosso, bruno o nero, secondo le varietà, con una prominenza a uncino alla base della quale è situato un ilo minuto.
Il testa è ripiegato; l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due abbondanti cotiledoni amilacei di colore crema.

Istologia
Testà: cellule a palizzata di altezza variabile, a intervalli regolari, da 100 a 160 µm (la variabilità è visibile in sezione radiale), con parte terminale arrotondata, e con pareti ondulate nella parte centrale e lisce alle estremità; cellule a clessidra piccole, isodiametriche (h 35x35 µm)
Cotiledoni: cellule del mesofillo isodiametriche o leggermente allungate, alcune con pareti porose, altre con pareti lisce; amido in granuli per la maggior parte sferoidali (φ max 45 µm) con ilo centrale a volte non visibile, a volte puntiforme o fessurato; altri granuli ovali con ilo allungato fessurato e croce di polarizzazione doppia

1.3.2 Fagiolo (*Phaseolus vulgaris*)

Seme
Seme ovoidale o sferico, di vari colori e dimensioni, con ilo allungato.
Il testa è consistente, con superficie esterna liscia o leggermente bucherellata; l' endosperma è sottile; l' embrione comprende due abbondanti cotiledoni amilacei di colore crema.

Istologia
Testa: cellule a palizzata alte 60 µm, con parte terminale piatta; cellule dell'ipoderma di forma prismatica (h 30 µm), contenenti ciascuna un prisma di ossalato di calcio
Cotiledoni: cellule del mesofillo larghe, isodiametriche, con pareti porose; amido in granuli ellittici o rotondi, lunghi 30-50 µm, con ilo a volte non visibile, a volte allungato fessurato, con croce di polarizzazione doppia

1.3.3 Fava, Favetta (*Vicia faba maior, equina, minor*)

Seme
Seme ellissoidale o rettangolare, appiattito o tondeggiante, di lunghezza variabile secondo la varietà (3.5 cm V. maior, 2 cm V. equina, 1.3 cm V. minor), con ilo allungato situato alla sommità. Il testa è consistente, di colore verde, bruno, viola o nero; l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due abbondanti cotiledoni amilacei di colore crema.

Istologia
Testa: cellule a palizzata alte fino a 185 µm con parte terminale piatta; cellule a clessidra di grandi dimensioni (h 75x60 µm)
Cotiledoni: cellule del mesofillo larghe con pareti sottili non porose; amido in granuli di varie forme (ellittici, sferici, reniformi, triangolari) lunghi 20-40 µm, con ilo allungato, occasionalmente fessurato, e croce di polarizzazione doppia o tripla

1.3.4 Lenticchia (*Lens esculenta*)

Seme
Seme lenticolare, piatto, largo 8 mm, con ilo centrale stretto e minuto.
Il testa, di colore giallo-grigio, bruno o nero, è coriaceo; l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due cotiledoni di colore bruno chiaro, in parte amilacei in parte oleoproteici.

Istologia
Testa: cellule a palizzata alte fino a 45 µm, arrotondate nella parte terminale; piccole cellule a clessidra appiattita (h 25x30 µm)
Cotiledoni: cellule del mesofillo larghe, con pareti sottili non porose, contenenti abbondante materiale proteico granulare e granuli di amido di forme ellissoidali, reniformi o triangolari (ϕ max 40 µm) con ilo allungato fessurato e croce di polarizzazione doppia

1.3.5 Lupini

1.3.5.1 Lupino bianco (*Lupinus albus*)

Seme
Seme tondeggiante, piatto, largo 1.5 cm, di colore crema, con ilo rotondo arancio, lungo 2 mm, situato su una leggera prominenza centrale.
Il testa e l'endosperma sono sottili; l'embrione comprende due cotiledoni proteici compatti, di colore crema.

Istologia
Testa: cellule a palizzata alte fino a 125-130 µm, con caratteristica leggera curvatura a spigolo, con parte terminale piatta; cellule a clessidra di grandi dimensioni (h 70x60 µm)
Cotiledoni: cellule dell' epidermide con pareti non porose; cellule del mesofillo con pareti moderatamente spesse e porose, contenenti granuli di aleurone poligonali, larghi fino a 20 µm, strettamente aggregati, che fuoriescono dalle cellule in gruppi compatti di più granuli

1.3.5.2 Lupino giallo (*Lupinus luteus*)

Seme
Seme tondo, piatto, largo 8 mm, di colore bruno chiaro variegato in bruno scuro o nero, con ilo depresso lungo 1 mm. Struttura come Lupino bianco.

Istologia
Testa: cellule a palizzata come Lupino bianco, con parte terminale arrotondata; cellule a clessidra isodiametriche (h 40x40 µm)
Cotiledoni: cellule dell'epidermide con pareti porose; cellule del mesofillo come Lupino bianco

1.3.5.3 Lupino blu (*Lupinus angustifolius*)

Seme
Seme quasi sferico, largo 8 mm, di colore bianco opaco oppure bruno-grigio variegato in bruno scuro secondo le varietà, con ilo depresso. Struttura come Lupino bianco.

Istologia
Testa: cellule a palizzata come Lupino bianco; cellule a clessidra isodiametriche (h 40x40 µm)
Cotiledoni: cellule dell'epidermide con pareti porose; cellule del mesofillo con pareti porose molto spesse, particolarmente negli angoli, con contenuto come Lupino bianco.

1.3.6 Pisello (*Pisum sativum*)

Seme
Seme sferico di vari colori, con ilo ovale, piccolo e poco evidente, in posizione centrale.
Il testa sottile ha la superficie esterna bucherellata da leggere infossature (è simile al testa della soia); l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due abbondanti cotiledoni verdi/gialli amilacei.

Istologia
Testa: cellule a palizzata alte 90 μm con parte terminale piatta; piccole cellule a clessidra isodiametriche (h 25x25 μm) con rigature spesso evidenti nelle pareti
Cotiledoni: epidermide con gruppi di cellule disposti a parquet; cellule del mesofillo larghe, con pareti non porose; amido in granuli di forme ellittiche, triangolari o tondeggianti (φ medio 50 μm), con ilo non sempre visibile, talvolta allungato leggermente fessurato, con croce di polarizzazione doppia o tripla

1.3.7 Veccia (*Vicia sativa*)

Seme
Seme lenticolare o sferico, largo 5-6 mm, con ilo stretto centrale bianco.
Il testa è consistente, di colore bruno chiaro o nero, in parte macchiettato; l'endosperma è sottile; l'embrione comprende due abbondanti cotiledoni bianchi amilacei.

Istologia
Testa: cellule a palizzata alte 70 μm, arrotondate nella parte terminale; piccole cellule cellule a clessidra appiattita (h 27x40 μm), con rigature nelle pareti, a volte con contenuto bruno
Cotiledoni: cellule del mesofillo larghe, con pareti porose; amido in granuli ellissoidali lunghi 55 μm, con ilo non sempre visibile, talvolta allungato e più o meno fessurato, con croce di polarizzazione doppia o tripla

1.4 Derivati di radici/tuberi

Prodotti e sottoprodotti, essiccati/macinati, dell'estrazione di componenti da radici/tuberi di varie specie agrarie.

Gli elementi di identificazione sono costituiti essenzialmente dai contenuti cellulari della polpa.

1.4.1 Radici di Barbabietola da zucchero (*Beta vulgaris altissima* - Chenopodiacee)

Composizione
Polpe o fettucce: strisce essiccate di polpa zuccherina di colore bianco o grigio chiaro striato di scuro, dure e leggermente arrotolate, con residui di tessuti epidermici aderenti. Immerse in acqua, in pochi minuti aumentano di volume diventando molli e soffici.

Istologia
Sughero: larghe cellule tabulari poligonali
Parenchima (polpa): larghe cellule contenenti polvere cristallina birifrangente di ossalato di calcio e di saccarosio residuo, monocromatico il primo, fortemente pleocroico il secondo; abbondanti vasi larghi, alcuni punteggiati, altri reticolati con maglie larghe, altri, nella zona del colletto, spiralati e spiralreticolati

1.4.2 Radici di Patata dolce o Batata (*Ipomaea batatas* - Convolvulacee)

Composizione
Fettucce: strisce essiccate di polpa amilacea leggermente arrotolate, di colore crema o arancio, con tessuti epidermici aderenti bianchi, gialli o rosa

Istologia
Sughero: cellule tabulari quadrangolari
Parenchima (polpa): cellule tondeggianti, alcune contenenti amido, altre una drusa di ossalato di calcio; larghe cellule laticifere rettangolari con contenuto bruno; vasi punteggiati larghi fino a 50 μm
Amido: granuli sferici o emisferici o a campana (ϕ max 50 μm), con ilo eccentrico puntiforme, molto luminosi in luce polarizzata e con croce di polarizzazione molto netta, spesso riuniti in aggregati di 2-3-4 granuli

1.4.3 Radici di Manioca (*Manihot spp.* - Euforbiacee)

Composizione
Fettucce: strisce di polpa amilacea molto fragili, di colore bianco-grigio, con tessuti epidermici aderenti di colore bruno violaceo
Farina: polvere fine grigia, soffice e lucente, con residui di tessuti epidermici
Amido: polvere finissima bianca non differenziata, costituita da amido praticamente puro
Amido gonfiato (pregelatinizzato): polvere bianca non differenziata, costituita da amido trattato termicamente

I derivati della Manihot amara possono contenere residui di acido cianidrico.

Istologia
Sughero: cellule tabulari quadrangolari pigmentate in bruno
Parenchima (polpa): cellule della zona periferica rettangolari, alcune con pareti spesse lignificate (sclereidi) disposte in gruppi isolati; cellule amilifere isodiametriche; vasi finemente reticolati, larghi fino a 200 μm

Amido: granuli sferici o emisferici o a fiasco (ϕ max 35 μm) talvolta con anelli evidenti, con ilo centrale puntiforme, molto luminosi in luce polarizzata e con croce di polarizzazione molto netta, spesso riuniti in aggregati di 2-3 granuli
Amido pregelatinizzato: granuli di amido rigonfi, distorti, privi di croce di polarizzazione o con croce molto sfumata, che si colorano in rosso con Rosso Congo 0.5%

1.4.4 Tuberi di Patata (*Solanum tuberosum* - Solanacee)

Composizione
Polpa: frammenti irregolari, o strisce, di polpa amilacea essiccati, fragili, giallastri, con tessuti epidermici bruni aderenti
Fecola: polvere finissima bianca non differenziata, costituita da amido praticamente puro
Fecola pregelatinizzata: polvere bianca non differenziata, costituita da amido trattato termicamente

Istologia
Sughero: cellule tabulari di forma irregolare o poligonale
Parenchima (polpa): larghe cellule amilifere isodiametriche; vasi di vari tipi (spiralati, reticolati con maglie larghe, punteggiati) collegati insieme in ampi reticoli
Amido/Fecola: granuli ellissoidali, ovoidali o sferici (ϕ max 100 μm), con ilo eccentrico puntiforme circondato da strie concentriche chiare e scure alternate, con croce di polarizzazione molto evidente
Fecola pregelatinizzata : granuli di amido rigonfi, distorti, privi di croce di polarizzazione o con croce sfumata, che si colorano in rosso con Rosso Congo 0.5%

1.4.5 Tuberi di Topinambour (*Helianthus tuberosus* - Composite)

Composizione
Fettucce: frammenti irregolari grossolani di polpa zuccherina essiccata, di vari colori da bianco ad arancio, con tessuti epidermici aderenti di colore giallo-bruno.

Istologia
Sughero: cellule tabulari poligonali, pigmentate in giallo bruno
Corteccia: cellule poligonali con pareti impregnate di resina gialla, interrotte da cavità oleoresinose, originariamente contenenti resina solida gialla
Parenchima (polpa): cellule allungate, interrotte da vasi spiralati o spiral-reticolati, larghi fino a 30 μm
Tutti i tessuti contengono inulina in soluzione, individuabile con alcole etilico a 90°, con il quale forma un precipitato di cristallini aghiformi aggregati in rosette (sferocristalli)

1.5 Derivati di frutti

1.5.1. Pastazzo di agrumi (*Citrus spp.* - Rutacee)

Composizione
Residui di tutte le parti del frutto di vari agrumi: frammenti grossolani di scorza (epicarpo, ipoderma, mesocarpo superiore saldati insieme) duri, arrotolati, con superficie esterna bucherellata annerita e con superficie interna di colore bruno; aggregati compressi di residui di pellicole e vescicole degli spicchi (mesocarpo inferiore, endocarpo) in lamine sottili arrotolate, di colore crema o grigio; semi ovali interi o frantumati, con testa rugoso annerito e con residui di embrioni gialli o verdi.

Istologia
Mesocarpo superiore: cellule larghe, con pareti spesse, contenenti prismi di ossalato di calcio; nei residui delle arance sono talvolta visibili microcristalli di esperidina, aghiformi, birifrangenti, aggregati in rosette
Endocarpo: cellule delle vescicole larghe e allungate, molto trasparenti, con pareti lisce e sottili; vescicole abortite isolate, formate da 2-3 larghe cellule rotonde con pareti spesse e porose
Testa: cellule dell'epidermide superiore allungate con pareti porose, con parte terminale lignificata e mucillaginosa estroflessa in un prolungamento appuntito (visibile in sezione radiale)

1.5.2 Gusci di carrube (*Ceratonia siliqua* - Leguminose)

Composizione
Derivati della frantumazione del pericarpo zuccherino (baccello, commercialmente denominato guscio) del frutto del carrubo, più o meno privato dei semi, con forte odore caratteristico: frammenti irregolari di pericarpo con superficie esterna liscia e lucida, di colore bruno scuro, con zona intermedia opaca, spugnosa, di colore bruno chiaro, disseminata di cavità e di punti colorati in bruno rossastro, e con superficie interna membranacea, di colore giallo-bruno lucente; semi ovali, lunghi 9 mm, generalmente interi, con testa sottile, bruno scuro o rosso, lucido, con endosperma abbondante, durissimo, grigio chiaro, e con embrione minuto.

Istologia
Pericarpo: alcune cellule del mesocarpo contengono tannino, hanno forma allungata (alcune fino a 500 µm), e caratteristiche pareti profondamente ripiegate, si colorano in blu-viola con idrato di sodio, in verde scuro/nero con solfato ferroso
Testa: cellule dell'epidermide a palizzata alte fino a 175 µm, con parte terminale piatta; cellule dell'ipoderma a clessidra (h

35x30 µm) con pigmento bruno; cellule parenchimatiche con pareti spesse talvolta pigmentate in bruno
Endosperma (tessuto normalmente assente nelle Leguminose): cellule quadrangolari contenenti aleurone; altre cellule irregolari, con larghe pareti di spessore irregolare: nelle pareti sono talvolta visibili granuli di aleurone e globuli di olio

1.5.3 Polpa di mele (*Pyrus malus* - Rosacee)

Composizione
Residui di tutte le parti del frutto: frammenti di epidermide del ricettacolo dell'ovario (buccia) arrotolati, lisci e lucidi, generalmente anneriti; aggregati compressi e fibrosi del ricettacolo e del pericarpo (polpa) di colore chiaro; semi ovali, appuntiti, interi o frantumati, con testa sottile e coriaceo, bruno e lucido; residui di embrioni bianchi.

Istologia
Epidermide del ricettacolo: cellule quadrangolari con pareti spesse e lisce, suddivise in 3-4 cellule figlie con pareti sottili. Le cellule figlie sono larghe fino a 50 µm; alcune hanno pareti porose e talvolta contengono residui di clorofilla o di pigmento rosso
Ricettacolo e pericarpo: cellule irregolari a sacco, molto larghe, trasparenti, con pareti sottili e lisce, a volte con piccoli granuli di amido sferici (ϕ 15 µm); abbondanti fasci vascolari con vasi spiralati, anulari, reticolati, punteggiati; druse di ossalato di calcio; tricomi pluricellulari, a volte ramificati, nei quali le singole cellule costituenti possono avere pareti lisce o tubercolate o lignificate
Testa: cellule dell'epidermide superiore allungate, con pareti spesse e con residui di mucillagine; fibre sclerenchimatiche larghe, brune, con punteggiature diagonali nelle pareti

1.5.4 Polpa di pomodoro (*Solanum lycopersicum* - Solanacee)

Composizione
Residui di tutte le parti del frutto: frammenti di epicarpo (buccia) gialli, lisci e lucidi, sottili, con evidente struttura a cellule poligonali; aggregati compressi, fibrosi, di mesocarpo (polpa) di colore giallo arancio; semi rotondi, appiattiti, interi o frantumati, con testa coriaceo di colore crema avvolto da uno strato di lanugine ruvida

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo poligonali, con pareti porose, contenenti pigmento giallo

Testa: le cellule dell'epidermide superiore sono formate da una parte basale larga, arrotondata, con parete spessa lignificata, profondamente ondulata, e da una parte terminale estroflessa in una appendice rigida, lunga e stretta, con pareti lisce e diritte (simile a un tricoma unicellulare)

1.5.5 Vinacce di uva (*Vitis vinifera* - Vitacee)

Composizione
Residui di tutte le parti del frutto (acino) di colore violaceo nell'insieme: lamine sottili arrotolate di epicarpo (buccia); mesocarpo (polpa) polverizzato; frammenti di semi (v. 1.2.10); frammenti di piccioli e di raspi di forma cilindrica, fibrosi, più o meno grossolani, di colore viola

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo poligonali, con pareti spesse; cellule del mesocarpo larghe, rotonde, con pareti sottili; cristallini aghiformi (rafidi) di ossalato di calcio isolati o in fasci; fasci fibrovascolari abbondanti con piccoli vasi spiralati
Seme: v. 1.2.10

1.6 Foraggi

I foraggi sono costituiti in massima parte da piante intere di specie erbacee, prevalentemente Leguminose e Graminacee. Contengono, in proporzioni variabili secondo lo stato di maturazione alla raccolta, steli, foglie, fiori e talvolta frutti e semi.
Altri foraggi provengono da parti di piante ottenute come residui di lavorazione di varie specie agrarie.

Secondo la tecnologia di essiccazione si distinguono: 1) foraggi disidratati artificialmente, di colore verde brillante, che sbiadisce rapidamente per esposizione alla luce, fino a diventare grigio-bruno; 2) foraggi affienati, di colore grigio-verde/bruno.
Il colore bruno può anche essere indice di eccesso di steli, o di abbondanza di Graminacee nelle Leguminose, di invecchiamento, di conservazione inadeguata.

Nei foraggi non macinati, l'esame macroscopico è sufficiente a distinguere sia la famiglia che la specie botanica, in base ai caratteri esterni delle varie parti delle piante.
Nei foraggi macinati grossolani, l'esame stereoscopico è sufficiente a distinguere la famiglia, in base ai caratteri dei frammenti degli steli/foglie/fiori, e talvolta anche la specie, in base ai caratteri di eventuali frutti/semi interi.

Nelle farine, l'esame stereoscopico può essere sufficiente a distinguere la famiglia botanica, ma è insufficiente a distinguere la specie; l'identificazione della specie è basata sull'esame istologico delle particelle al microscopio composto.

1.6.1 Leguminose

a) Principali caratteri rappresentativi della famiglia

Conformazione generale della pianta
- Steli: cilindrici semilegnosi, privi di nodi, con superficie esterna opaca, liscia o vellutata, e con cilindro centrale spugnoso
- Foglie: composte, sottili, arrotondate, talvolta dentellate, con nervature decorrenti a ventaglio dalla nervatura centrale
- Fiori: singoli, che si sviluppano in frutti con baccello deiscente
- Frutti e semi: baccelli contenenti uno o più semi

Istologia generale
- Stelo: epidermide di cellule moderatamente allungate, con pareti lisce e diritte, interrotte da stomi; uno strato subepidermico di cellule contenenti ciascuna un prisma di ossalato di calcio; parenchima spugnoso
- Foglia: epidermide superiore e inferiore di cellule di varie forme, con pareti lisce, diritte o ondulate, interrotte da stomi; tricomi pluricellulari con pareti tubercolate; mesofillo di cellule parenchimatiche contenenti clorofilla e prismi di ossalato di calcio
- Fiore: struttura di tipo fogliare
- Seme: v. 1.2.3

b) Principali elementi istologici rappresentativi della specie

Allo stereomicroscopio: superficie degli steli; morfologia di frutti/semi
Al microscopio composto: morfologia delle cellule della pagina inferiore della foglia; tricomi; testa dei semi

1.6.1.1 Sfarinati di Erba medica (*Medicago sativa*).

Composizione
Frammenti rettangolari di steli di colore verde chiaro, con superficie liscia opaca e zona interna spugnosa; lamine fogliari di colore verde scuro, accartocciate o polverizzate (originariamente oblunghe); talvolta piccoli baccelli arrotolati a spirale, interi o spezzati, contenenti ciascuno più semi reniformi lunghi fino a 3 mm, di colore verde oliva o grigio bruno.

Istologia
Stelo: cellule dell'epidermide isodiametriche, alcune allungate, con pareti diritte lisce; gruppi di cellule del cilindro centrale contenenti ciascuna un prisma di ossalato di calcio; parenchima spugnoso
Fòglia: cellule dell'epidermide superiore e inferiore isodiametriche, con pareti lisce ondulate; tricomi unicellulari lunghi fino a 1.5 mm, larghi 15 µm, con piccoli tubercoli sparsi su tutta la parete; gruppi di cellule del mesofillo contenenti ciascuna un prisma di ossalato di calcio
Seme: cellule a palizzata del testa alte 35 µm, con parte terminale arrotondata; cellule dell'ipoderma a clessidra appiattita (h 6x30 µm), con rigature evidenti nelle pareti

1.6.1.2 Sfarinati di Trifoglio violetto (*Trifolium pratense*)

Composizione
Simile a quella dell'Erba medica, dalla quale si distingue per la superficie vellutata degli steli, per i piccoli baccelli ovali, contenenti un solo seme, e per i semi piriformi, lunghi 2 mm, di colore da giallo a viola, uniforme o variegato

Istologia
Stelo: cellule dell'epidermide leggermente allungate, con pareti diritte, spesso porose; tricomi uni o pluricellulari come nelle foglie; il resto dello stelo come Erba medica
Foglia: cellule dell'epidermide superiore isodiametriche con pareti lisce, leggermente ondulate; cellule dell'epidermide inferiore isodiametriche con pareti lisce, profondamente ondulate, che spesso presentano nelle curve piccole estroflessioni; tricomi unicellulari lunghi fino a 2 mm, con tubercoli molto pronunciati; tricomi pluricellulari corti e lisci; mesofillo come Erba medica
Seme: cellule a palizzata del testa alte fino a 55 µm, con parte terminale piatta; cellule dell'ipoderma a clessidra appiattita (h15x27 µm), con rigature evidenti nelle pareti

1.6.1.3 Sfarinati di Trifoglio incarnato (*Trifolium incarnatum*)

Composizione
Simile a quella del Trifoglio violetto, dal quale si differenzia per i semi ovali, lunghi circa 2.5 mm, di colore bruno chiaro

Istologia
Foglia: cellule dell'epidermide superiore e inferiore isodiametriche, con pareti diritte e sottili, finemente ma distintamente porose; tricomi unicellulari, lunghi fino a 1.5 mm, larghi 30 um, con lume cellulare molto stretto e con tubercoli marcati; mesofillo come Erba medica
Seme: come Trifoglio violetto

1.6.1.4 Sfarinati di Trifoglio ibrido (*Trifolium hybridum*)

Composizione
Simile a quella delle altre Leguminose, dalle quali si distingue per la superficie degli steli, in parte liscia in parte vellutata, e per i semi ovali, lunghi 1.5 mm, di colore grigio-bruno/verdastro

Istologia
Foglia: cellule dell'epidermide inferiore con pareti diritte e lisce; rari tricomi unicellulari lunghi fino a 800 µm, larghi 15 µm, con tubercoli poco marcati; mesofillo come Erba medica
Seme: cellule a palizzata del testa alte fino a 50 µm, con parte terminale arrotondata; cellule dell'ipoderma a clessidra appiattita (h15 x 27um), con rigature evidenti nelle pareti

1.6.1.5 Sfarinati di Fieno greco (*Trigonella foenum-graecum*)

Composizione
Simile a quella delle altre Leguminose, dalle quali si distingue per l'odore pungente caratteristico e per i semi reniformi, appiattiti, con infossatura obliqua, lunghi circa 5 mm, di colore verde-bruno

Istologia
Seme: cellule a palizzata del testa con parte terminale appuntita; cellule dell'ipoderma a clessidra appiattita (h20 x 70 µm), con rigature evidenti nelle pareti

1.6.2 Graminacee

a) Principali caratteri rappresentativi della famiglia

Conformazione generale della pianta
- Steli: cilindrici con nodi sui quali sono inguainate le foglie, con superficie esterna liscia e lucida e con cilindro centrale spugnoso
- Foglie: singole, coriacee, rigide, strette e allungate, con nervature longitudinali parallele alla nervatura centrale generalmente molto pronunciata
- Fiori: infiorescenze composte, a spiga o a panicolo secondo la specie, formate da spighette contenenti uno o più fiori che si sviluppano in glume e avvolgono il frutto
- Frutti/semi: cariossidi

Istologia
- Stelo: epidermide di cellule allungate, con pareti lisce e ondulate, interrotte da cellule rotonde, con stomi occasionali; uno

strato subepidermico di sclereidi allungate con pareti punteggiate; parenchima spugnoso
- Foglia: epidermide superiore e inferiore di cellule allungate, con pareti lisce, diritte o leggermente ondulate, con numerosi stomi; tricomi unicellulari corti e appuntiti, con pareti lisce; mesofillo di cellule parenchimatiche con clorofilla
- Frutto (cariosside): v. 1.1.1

b) Principali elementi istologici rappresentativi della specie

Allo stereomicroscopio: morfologia delle infiorescenze e delle cariossidi intere
Al microscopio composto: i tessuti delle varie specie di Graminacee hanno strutture simili, variando talvolta le dimensioni delle cellule e lo sviluppo degli strati cellulari

1.6.2.1 Paglia di cereali macinata

Composizione
Prodotto della macinazione di steli, foglie, spighe, spighette, glume, cariossidi di Graminacee da granella, nell'insieme di colore giallino, con le caratteristiche della famiglia: frammenti di steli irregolari, piatti, di colore bruno chiaro, con superficie esterna liscia e lucida e zona interna soffice e spugnosa; lamine fogliari rigide, fragili, di colore giallo-grigio, frantumate o polverizzate; glume e cariossidi intere o frantumate.

Istologia
Stelo: cellule dell'epidermide allungate in senso longitudinale, con pareti leggermente ondulate e porose, interrotte da piccole cellule rotonde e da rari stomi; fibre allungate, sottili, con pareti spesse e punteggiate; cellule parenchimatiche del cilindro centrale con pareti punteggiate; fasci fibrovascolari con vasi anulati, spiralati e punteggiati
Foglia: cellule dell'epidermide inferiore rettangolari, con pareti diritte e porose, interrotte da numerosi stomi e da tricomi unicellulari conici, dentellati, corti, con base arrotondata e lume largo
Glume e cariossidi: (v. Graminacee 1.1.1)

1.6.3 Altri foraggi

1.6.3.1 Foglie di Barbabietola (*Beta vulgaris*) macinate

Composizione
Frammenti di lamine fogliari di colore grigio/verde, consistenti, con superficie liscia, con nervature inserite ad angolo acuto

sulla nervatura principale prominente. In alcune specie le nervature sono rosse, la lamina fogliare tra le nervature è di colore rosso-bronzo.

Istologia
Cellule dell'epidermide superiore e inferiore di forme irregolari, con pareti lisce, ondulate, con stomi abbondanti (alcuni con piccole estroflessioni) e con tricomi pluricellulari; mesofillo di cellule parenchimatiche con clorofilla e con microcristalli di ossalato di calcio riuniti in aggregati minuti o in masse sferiche, facilmente disgregabili in finissima polvere

1.7 Residui vari

1.7.1 Melassi

Composizione
Residui della produzione dello zucchero dalla radice di Barbabietola da zucchero (*Beta vulgaris altissima* - Chenopodiacee) o dal fusto della Canna da zucchero (*Saccharum officinarum* - Graminacee).
Possono presentarsi in due forme:
1) sciroppi densi, di colore variabile da bruno chiaro a nero, con odore sgradevole quelli provenienti dalle barbabietole, con odore gradevole quelli della canna; se aggiunti ai mangimi solidi in quantità rilevante ricoprono i frammenti grossolani degli altri ingredienti di uno strato vischioso al quale aderiscono successivamente le particelle più fini, e raggruppano le particelle fini in sferette con zona centrale molle e sciropposa
2) prodotti solidi granulari, costituiti da frammenti irregolari di melasso solidificato, di colore bruno chiaro o scuro, lucidi, bucherellati, friabili.

Istologia
Melassi solidi: le particelle appaiono brune e opache; in acqua si sciolgono lentamente con diffusione del colore, mostrando all'interno e nel liquido circostante piccoli cristalli ellissoidali di saccarosio, birifrangenti e pleocroici, che si dissolvono rapidamente (dopo evaporazione dell'acqua, il saccarosio ricristallizza in forme laminari raggiate o dendritiche, anch'esse birifrangenti)

Nota
Sia fluidi che essiccati, i melassi contengono residui di tessuti vegetali che possono essere concentrati al fine di facilitare il riconoscimento della specie di provenienza.

Sospendere per 30 minuti 2 g di prodotto in 200 ml di acqua calda a 60°C e filtrare su carta rapida. Esaminando il residuo umido al microscopio composto, si riscontrerà: nei melassi di barbabietola, residui dei vasi radicali della polpa di barbabietola (v. 1.4.1); nei melassi di canna, residui di tessuti con i caratteri istologici generali degli steli delle Graminacee (v. 1.6.2.1)

1.7.2 Borlande di birreria

Composizione
Residui essiccati di cariossidi annerite, intere o spezzate, di orzo singolo o in miscela con altri cereali, con frammenti anneriti di glume e di altre parti delle cariossidi con l'aspetto caratteristico della specie (v. 1.1.1).

Istologia
Delle strutture caratteristiche delle specie, rimangono inalterati i tessuti delle glume e del pericarpo e alcuni granuli di amido

1.7.3 Radichette di malto

Composizione
Radici intere o spezzate dell'orzo o di altri cereali germogliati: piccoli cilindri lunghi 1-2 mm, con diametro 0.5 mm, di colore giallo o bruno, arrotolati in senso longitudinale, di aspetto poroso. Possono esservi associati residui anneriti di glume e di altre parti delle cariossidi

Istologia
In acqua, le singole radichette appaiono come cilindri più o meno opachi; in cloralio idrato mostrano cellule larghe, trasparenti, non differenziate, e sottili fasci vascolari

1.7.4 Distillati di cereali

Composizione
Residui essiccati delle cariossidi fermentate di uno o più cereali: grumi anneriti di endosperma; frammenti di glume; lamine di pericarpo di colore ambra, coriacee, piatte, rigide quelle del granoturco, brune, fragili e arrotolate quelle di altri cereali

Istologia
V. Borlande di birreria (1.7.2)

1.7.5 Solubili di distilleria

Composizione
Derivati dall'essiccazione dei liquidi residui di distilleria dei cereali: lamine irregolari, bucherellate, di colore rosso bruno, a consistenza gommosa, con superficie lucida da un lato, rugosa nell'altro, e con zone cristalline lucide sparse. Possono esservi associati residui occasionali anneriti di altre parti di cariossidi

Istologia
In glicerina le particelle appaiono opache, di colore rosso scuro, con aperture oblunghe e con zone chiare e scure dovute alle differenze di spessore delle lamine; in acqua si sciolgono lentamente con diffusione del colore

1.7.6 Distillati di melasso

Composizione
Derivati dall' essiccazione dei liquidi residui della fermentazione del melasso dopo la rimozione dell'alcole per distillazione: particelle granulari lucide di colore nero violaceo, leggere e fragili.

Istologia
In glicerina le particelle appaiono brune e opache; in acqua si sciolgono espandendosi lentamente e mostrando all'interno cellule di lieviti e talvolta residui di tessuti dei vegetali di origine

1.7.7 Lieviti

Composizione
Secondo l'origine si distinguono: 1) lievito di birra, in lamine irregolari di colore crema/bruno chiaro, sottili, bucherellate, fragili; 2) prodotti ottenuti dalla separazione delle cellule dei lieviti dai substrati di coltura industriale: sono di colore bruno chiaro e possono presentarsi come polvere fine, non differenziata, oppure in piccoli pellets sferici o cilindrici, di aspetto ceroso, friabili; 3) prodotti disomogenei, contenenti, oltre a lieviti, i residui solidi dei substrati di coltura: hanno composizione variabile in funzione del substrato e non sono riconoscibili allo stereomicroscopio come prodotti a base di lieviti.

Istologia
Le singole cellule dei lieviti, che possono essere isolate o in gruppi, hanno forma rotonda, ovale o allungata, secondo la specie o le condizioni di coltura, e diametro medio 8-10 μm; sono isotrope in luce polarizzata; si colorano in bruno con soluzione di Lugol; con Arancio acridina si colorano in arancio; in luce UV

le cellule uccise fluorescono nel colore arancio, quelle vive mantengono l'autofluorescenza verde delle proteine.
Nei prodotti contenenti anche il substrato di coltura, le singole cellule dei lieviti sono in parte eclissate dalle preponderanti strutture dei materiali dei substrati.

Tecnica di rilevamento di lieviti aggiunti in piccole quantità nelle miscele
Trasferire 0.5 g di mangime finemente macinato, o della frazione fine, in scatola Petri, ricoprire con 100 ml di acqua e lasciare in scatola chiusa per 12-24 ore in stufa a 30°C. Dopo 12-24 ore, le rare cellule rimaste vive dopo il processo di inattivazione si saranno moltiplicate e le numerose nuove cellule saranno più agevolmente rilevabili esaminando al microscopio una goccia della sospensione.

1.7.8 Residui di panetterie, pastifici, pasticcerie

Composizione
Polveri non differenziate, di colore crema o bruno chiaro. Contengono fini particelle di residui essiccati e macinati di pane, grissini, crackers, biscotti, torte, pasta ecc., singoli o in miscele tra di loro, separati meccanicamente dai materiali non commestibili (alluminio, metalli, plastiche ecc.).

Istologia
In acqua le particelle si disgregano liberando granuli di amido in massima parte distorti, isotropi, privi di croce di polarizzazione o con croce molto sfumata, che si colorano in rosso con Rosso Congo 0.5%. Eventuali granuli integri residui possono consentire l'identificazione della specie di provenienza

1.8 **Funghi/frutti/semi indesiderabili**

1.8.1 Ascomiceti

1.8.1.1 Segale cornuta (*Claviceps purpurea*)

Sclerozio
Corpo fruttifero della forma di sopravvivenza invernale del fungo. Ha forma di cilindro arcuato, affusolato alle estremità, lungo fino a 30 mm, duro e compatto, ed è costituito da una sottile zona esterna nera o viola saldata a un'abbondante zona interna bianca.

Contiene l'alcaloide clavorubina.

Istologia
Zona esterna: non differenziata
Zona interna: piccole cellule rotonde (ϕ 3-10 μm) formate dal micelio del fungo trasformato in pseudoparenchima. Per riscaldamento in cloralio idrato, dalle cellule si liberano globuli di olio

Saggio di identificazione
Reagente: soluzione fresca al 20% di carbonato di sodio anidro.
Procedimento: trasferire in capsula Petri il frammento da identificare, oppure 2 mg di mangime finemente macinato o della frazione fine, aggiungere alcune gocce del reagente e osservare allo stereomicroscopio a 10-20x su fondo bianco.
Reazione: le particelle del fungo si colorano istantaneamente in rosso viola. Il colore svanisce in 1 minuto.

1.8.2 Semi di Crucifere e derivati

Per i caratteri generali del seme delle Crucifere e dei derivati dell'estrazione di oli v. 1.2.3

1.8.2.1 Senape cinese (*Brassica juncea juncea lutea*)

Seme
Seme irregolarmente sferico, ϕ 2 mm, con testa bruno scuro o giallo, secondo le varietà, a reticolazione molto marcata, con ilo piatto.

Istologia
Testa: mucillagine, con croce di polarizzazione evidente; cellule a palizzata pigmentate o a volte incolori, larghe 10-24 μm, alte in media 37 μm nelle varietà brune, 23 μm nelle gialle, con variabilità evidente

1.8.2.2 Senape indiana (*Brassica juncea integrifolia*)

Seme
Seme sferico, ϕ 2 mm, con testa bruno scuro o rossiccio a reticolazione molto marcata, con ilo piatto.

Istologia
Testa: mucillagine assente; cellule a palizzata pigmentate, larghe 10-24 μm, di altezza variabile (max 35 μm) a intervalli regolari

1.8.2.3 Senape nera (*Brassica nigra*)

Seme
Seme sferico, ϕ 1.5 mm, con testa bruno rossiccio a reticolazione molto marcata, con ilo rilevato.

Istologia
Testa: mucillagine stratificata con croce di polarizzazione evidente; cellule a palizzata pigmentate, larghe fino a 10 μm, con lume cellulare più stretto della doppia parete; l' altezza è uniforme, ma a intervalli regolari le pareti radiali si prolungano verso l'esterno in sottili estroflessioni che contribuiscono a marcare la reticolazione (visibile in sezione radiale)

1.8.2.4 Senape di Sarepte (*Brassica juncea juncea*)

Seme
Seme sferico, ϕ 2 mm, con testa bruno o giallo, secondo le varietà, a reticolazione marcata, con ilo piatto.

Istologia
Testa: mucillagine concentrica con croce di polarizzazione evidente; cellule a palizzata pigmentate o incolori, larghe 10-24 um, alte fino a 35 μm, con variabilità evidente a intervalli regolari

1.8.2.5 Senape d'Etiopia (*Brassica carinata*)

Seme
Seme irregolarmente sferico, ϕ 2-3 mm, con testa bruno scuro, rossiccio o giallo, secondo le varietà, a reticolazione molto marcata, con ilo rilevato.

Istologia
Come Senape di Sarepte (1.8.2.4)

1.8.2.6 Camelina (*Camelina sativa*)

Seme
Seme ovoidale allungato, con prominenza longitudinale dorsale, lungo 1.8 mm, con testa bruno rossiccio privo di reticolazione.

Istologia
Testa: mucillagine assiale, che in acqua fuoriesce dalle cellule in forma di estroflessioni cilindriche; cellule a palizzata pigpigmentate, larghe fino a 60 μm, di altezza uniforme, con pareti spesse e lume cellulare largo

1.8.3 Semi di Euforbiacee e derivati

I semi delle specie indesiderabili comprendono un testa (guscio) sottile, un endosperma abbondante oleoso e un embrione minuto con due cotiledoni.

Nell'endosperma sono localizzati i principi attivi responsabili delle proprietà tossiche dei semi e dei sottoprodotti dell'estrazione degli oli.

Gli elementi istologici più utili sono i tessuti del testa, opportunamente chiarificati.

1.8.3.1 Ricino (*Ricinus communis*)

Seme

Seme ovoidale, lungo 8-20 mm, con ilo prominente nella parte terminale.
Il testa è di colore grigio screziato di macchie brune, opaco su fondo lucido con effetto di variegature; è molto friabile e leggero e si spezza in minuti frammenti con angoli appuntiti. L'endosperma bianco, oleoso, contiene almeno tre principi tossici: la proteina ricina, l'alcaloide ricinina e un allergene.

Derivati

Composizione
Panello/Farina di estrazione: prodotti disomogenei, friabili, di colore grigio chiaro o scuro, contenenti lamine di endosperma compresso di colore grigio, con minuti frammenti grigi o bruni di gusci, in quantità variabili secondo il grado di decorticazione dei semi

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide poligonali, appiattite, alcune pigmentate e con pareti punteggiate; sclereidi allungate, leggermente curve, pigmentate e punteggiate, disposte a palizzata, visibili generalmente in gruppi (dettagli sono visibili dopo chiarificazione dei tessuti); parenchima spugnoso di larghe cellule contenenti druse di ossalato di calcio, interrotte da tessuto vascolare abbondante formato da delicati vasi spiralati

1.8.3.2 Purgère (*Jatropa curcas*)

Seme

Seme ovoidale lungo circa 2 cm, con due coste longitudinali prominenti.
Il testa è grigio scuro/nero con minute infossature di colore crema, spesso e duro, non friabile, a consistenza resinosa, talvolta con residui aderenti di sottili pellicole membranacee grigie, provenienti dall'endocarpo del frutto; il resto del seme come Ricino (1.8.3.1)

Derivati

Composizione
Panello: prodotto disomogeneo di colore grigio giallastro, con endosperma polverizzato, frammenti neri di gusci, pellicole grigie striate da venature, frammenti piatti di embrioni

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide colonnari, larghe 18 µm, alte fino a 130 µm, contenenti pigmento nero (viste dall'alto mostrano disposizione a rosetta); cellule parenchimatiche dell'ipoderma incolori, di forma irregolare o stellata; sclereidi allungate e curve come Ricino

1.8.3.3 Croton (*Croton tiglium*)

Seme

Seme ovoidale lungo 12 mm, a sezione quadrangolare con 4 coste longitudinali più o meno prominenti.
Il testa è coriaceo, di colore arancio-bruno,arancio con superficie liscia opaca, talvolta con residui aderenti di una sottile pellicola polverosa di colore bruno chiaro, proveniente dall'endocarpo del frutto; l'endosperma è giallo

Derivati

Composizione
Panello: prodotto polverulento con endosperma polverizzato di colore bruno e con frammenti di testa

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide poligonali, pigmentate in rosso-arancio/bruno, talvolta con piccoli granuli di amido; cellule

dell'ipoderma a palizzata con pareti finemente striate; sclereidi irregolari, isolate o in gruppi, con pareti punteggiate, sclereidi allungate e curve come Ricino (1.8.3.1)

1.8.4 Frutti di Fagacee e derivati

1.8.4.1 Faggio (*Fagus sylvatica*)

Frutto

Frutto di forma piramidale, con 3 creste salienti, lungo 12-16 mm.
Il pericarpo (guscio) è liscio, lucido, friabile, di colore marrone, ed è fornito di un ciuffo di tricomi corti ad un apice e di tricomi lunghi e abbondanti sparsi sulla superficie interna.
Il seme comprende: testa sottile, bruno rossiccio, endosperma inconsistente e un embrione con due cotiledoni abbondanti oleosi.
Nel pericarpo è localizzato l'alcaloide fagina, responsabile delle proprietà tossiche dei semi e dei sottoprodotti di semi non decorticati.

Derivati

Composizione
Panello di semi decorticati: prodotto grossolano di colore rosso-bruno, contenente frammenti lamellari di tutte le parti del seme
Panello di semi non decorticati: prodotto grossolano di colore bruno scuro, contenente residui di tutte le parti del seme e minuti frammenti sottili di pericarpo

Istologia
Pericarpo: cellule dell'epicarpo poligonali, pigmentate in bruno, con tricomi unicellulari lunghi fino a 400 µm; sclereidi del mesocarpo pigmentate, alcune con cristalli di ossalato di calcio; tricomi dell'endocarpo lunghi fino a 2-3 mm, con pareti sottili e lume largo, contenenti corpi pigmentati in bruno
Testa: cellule dell'epidermide bulbose, pigmentate in bruno
Endosperma: uno strato di cellule poligonali contenenti aleurone
Cotiledoni: parenchima con residui di olio, druse di ossalato di calcio, granuli di amido e di aleurone

1.8.5 Frutti di Graminacee

Per i caratteri generali del frutto delle Graminacee v. 1.1.1

1.8.5.1 Loglio o Zizania (*Lolium temulentum*)

Frutto
Cariosside di forma obovata, lunga 4-6 mm, con depressione larga e profonda nel lato ventrale. E' rivestita di glume aderenti con superficie opaca giallina marcata da 5 coste poco evidenti ed è fornita di arista lunga fino a 15 mm o più.
La cariosside è spesso infetta, in modo macroscopicamente non visibile, da *Endoconidium temulentum*, forma conidiale di *Gleotinia temulenta* (Ascomiceti), ritenuto responsabile della elaborazione degli alcaloidi tossici loliina e temulentina.

Istologia
Glume: le cellule rettangolari dell'epidermide esterna sono miste, lunghe e corte, e sono interrotte da numerosissime cellule rotonde, larghe, con pareti punteggiate, da file di stomi e da corti tricomi conici
Pericarpo: cellule trasversali con pareti lisce e sottili, disposte in colonne affiancate (come Orzo 1.1.1.5)
Endosperma: strato aleuronico non differenziato rispetto alle altre Graminacee; amido in granuli poligonali (ϕ max 7 µm), spesso riuniti in aggregati ovoidali lunghi 25-30 µm
Fra il pericarpo e l'endosperma sono localizzate le ife miceliali non settate del parassita lunghe, sottili, disposte in grovigli

1.8.6 Semi di Leguminose

Per i caratteri generali del seme delle Leguminose v. 1.2.4

1.8.6.1 Crotalaria (*Crotalaria spp.*)

Seme
Seme irregolarmente circolare o reniforme, talvolta appiattito, con depressione profonda nel lato ventrale, in prossimità della parte terminale più stretta.
Il testa è sottile; l'endosperma sottile è mucillaginoso; l'embrione è abbondante, con due cotiledoni duri, oleosi, contenenti l'alcaloide monocrotalina.
Dimensioni e colore del seme e forma dell'ilo variano secondo la specie:
1) *C. spectabilis*: 4-5 mm x 3-4 mm; testa liscio, grigio-bruno o nero, lucido; ilo prominente
2) *C. juncea*: 7-8 mm x 4-5 mm; testa liscio, nero e lucido; depressione profonda nella parte terminale anteriore che si incurva prolungandosi sopra l'ilo
3) *C. striata*: 3-4 mm x 2-3 mm; testa liscio, giallo bruno macchiettato di grigio scuro e nero; ilo incavato
4) *C. intermedia*: 2-3 mm x 2 mm; testa liscio, giallo paglia; ilo prominente

L'identificazione di *Crotalaria spp.* è basata sulla istologia dei tessuti del testa e su saggio cromatico.

Istologia
Testa: cellule dell'epidermide a forma di ipsilon, disposte a palizzata, alte fino a 100 µm, con parte terminale piatta o smussata; cellule dell'ipoderma a forma di lagena (lagenosclereidi), alte fino a 55 µm, larghe 30-70 µm nella parte basale più larga
Endosperma: cellule non differenziate, con mucillagine
Cotiledoni: tessuti non differenziati
Nota. I tessuti del testa sono simili a quelli di *Cyamopsis tetragonoloba* (Guar), Leguminosa non tossica.
Distinzione:
Guar *(Cyamopsis tetragonoloba)*: le lagenosclereidi dell'ipoderma sono più tozze, con collo più largo e più corto

Saggio di identificazione
Reagenti: 1) cloralio idrato + glicerolo + acqua (1:1:1)
2) soluzione di acido cloridrico (1:6)
3) soluzione di sodio idrato al 5%
Procedimento: trasferire in scatola Petri il frammento da identificare, oppure 2 mg di mangime finemente macinato o della frazione fine. Aggiungere 3 gocce del reagente 1) e 2 gocce del reagente 2). Miscelare, lasciare in riposo 3-4 minuti e osservare allo stereomicroscopio a 10-20x su fondo bianco.
Reazione: i frammenti di Crotalaria si colorano in rosa-rosso; aggiungendo un eccesso del reagente 3) il colore vira al blu.

1.8.7 Semi di Prunoidee (Rosacee)

Il seme delle Prunoidee è rinchiuso nell'endocarpo (nocciolo) del frutto.
Il nocciolo ha forma ovale (mandorla, pesca) o allungata (susina) o tondeggiante (albicocca, ciliegia), e dimensioni variabili secondo la specie; è legnoso, spesso, di colore bruno chiaro, con superficie liscia (albicocca, ciliegia, susina) o bucherellata (mandorla, pesca).
Il seme comprende: testa coriaceo; endosperma inconsistente saldato al testa; embrione voluminoso con due cotiledoni molli, oleosi, nei quali è localizzato il glucoside cianogenetico amigdalina, particolarmente abbondante nell'albicocca e nella mandorla amara.

Nei sottoprodotti delle industrie conserviere/estrattive dei frutti di Prunoidee, la distinzione delle specie indesiderabili da altre specie non tossiche è basata essenzialmente sulla morfologia delle sclereidi del testa dei semi, opportunamente chiarificato. Possono essere di aiuto residui di tessuti di altre parti dei frutti.

1.8.7.1 Albicocca (*Prunus armeniaca*)

Istologia
Testa: sclereidi dell'epidermide superiore di forma tondeggiante, alcune allungate (40x70 µm), con pareti di spessore uniforme, completamente punteggiate
Strutture utili del frutto: epicarpo di piccole cellule poligonali, larghe in media 60 µm; tricomi lunghi e corti, con base allargata e lume cellulare largo; fibre del mesocarpo lunghe e larghe, di forme spinose, con pareti fittamente punteggiate

Nota. Le sclereidi del testa sono simili a quelle di ciliegia e susina
Distinzione:
1) Ciliegia (*Prunus cerasus*): le sclereidi sono di forma tronca o a cupola, larghe 40-70 µm, con contorni spigolosi, talvolta con estroflesssioni negli angoli; le pareti, di spessore uniforme, talvolta sono lisce, talvolta punteggiate in una sola metà della cellula.
L'epicarpo del frutto ha cellule poligonali larghe fino a 100 µm ed è privo di tricomi
2) Susina (*Prunus domestica*): le sclereidi sono coniche, con pareti spesse in una metà, sottili nell'altra, punteggiate ovunque.
L'epicarpo del frutto ha piccole cellule poligonali ed è privo di tricomi

1.8.7.2 Mandorla amara (*Prunus amygdalus var. amara*)

Istologia
Testa: sclereidi dell' epidermide superiore di forma irregolarmente arrotondata, più o meno tronche, larghe 100-140 µm; le pareti hanno spessore uniforme e di norma sono punteggiate solo in una metà della cellula
Strutture utili del frutto: cellule dell'epicarpo poligonali; tricomi lunghi, con base leggermente allargata e lume cellulare stretto (forma intermedia tra albicocca e pesca)

Nota. Le sclereidi del testa sono simili a quelle di pesca e mandorla dolce.
Distinzione:
1) Pesca (*Prunus persica*): le sclereidi sono di forma arrotondata o conica, alcune larghe fino a 150 µm, altre più piccole (φ 50 µm), con pareti spesse e lisce nella metà più stretta, assottigliate e punteggiate nella metà più larga.
L'epicarpo del frutto ha cellule poligonali con pareti sottili, e tricomi corti e lunghi con base appuntita e lume cellulare stretto
2) Mandorla dolce (*Prunus amygdalus var. dulcis*): nessuna distinzione

1.8.8 Semi di Sapotacee e derivati

1.8.8.1 Mowrah o Bassia o Madhuca o Illipè (*Madhuca o Bassia longifolia= Illipè malabrorum; Madhuca o Bassia latifolia = Madhuca indica = Illipè latifolia*)

Seme

Seme fusiforme, lungo 2-4 cm, con un lato curvo e uno piatto. Il testa (guscio) è bruno scuro, legnoso, staccato dal resto del seme, con superficie esterna liscia, lucida, e superficie interna opaca, venata di striature biancastre/grigie; l'endosperma è sottile; l'embrione abbondante comprende due cotiledoni ineguali, lucidi, di colore bruno, contenenti grassi semisolidi.
Nei cotiledoni sono localizzate le saponine, responsabili delle proprietà tossiche del seme e dei sottoprodotti dell'estrazione dei grassi.

L'identificazione è basata sulla istologia del testa, opportunamente chiarificato, e dei tessuti dei cotiledoni.

Derivati

Composizione

Panello: prodotto disomogeneo, contenente frammenti grossolani, laminari, di embrioni compressi, lucidi, di colore bruno chiaro, e frammenti di gusci scuri

Istologia

Testa: cellule dell'epidermide poligonali, con pareti spesse, punteggiate, pigmentate in bruno; sclereidi fusiformi, alcune isodiametriche, con pareti spesse, punteggiate, incolori; tessuto vascolare abbondante
Cotiledoni: epidermide inferiore con cellule laticifere unite in catene lunghe fino a 1 mm; larghe cellule parenchimatiche del mesofillo con pareti punteggiate da lunghe aperture disposte a reticolo, alcune contenenti tannino
Nota. I tessuti dei cotiledoni sono simili a quelli dei semi di *Butyrospermum parkii* e di *Shorea splendida*, specie entrambe non tossiche.
Distinzione:
1) *Butyrospermum parkii* (Sapotacee): le catene di cellule laticifere sono più corte (200um); le cellule del mesofillo contenenti

tannino hanno pareti sia lisce, sia punteggiate da piccole aperture puntiformi
2) *Shorea splendida* (Dipterocarpacee), talvolta commercialmente denominata "Illipè": le cellule laticifere sono assenti; le cellule del mesofillo contenenti tannino hanno pareti lisce; altre cellule contengono piccoli granuli di amido sferoidali (ϕ 4-10 µm) con ilo centrale marcato

1.8.9 Semi di Solanacee

1.8.9.1 *Datura stramonium*

Seme

Seme reniforme, appiattito, lungo 4 mm, di colore bruno scuro o nero, più chiaro nella zona dell'ilo.
Il testa è rugoso; l'embrione cilindrico comprende due cotiledoni bianchi oleosi.
Contiene gli alcaloidi ioscIamina, atropina, scopolamina.

Istologia

Testa: cellule dell'epidermide contenenti pigmento nero, con pareti spesse e profondamente ondulate (viste dall'alto, hanno forma stellata). In luce UV, con acqua o cloralio idrato, i frammenti del testa fluorescono in verde-azzurro, che diventa giallo oro per aggiunta di sodio idrato 5%

2 PRODOTTI LATTIERI

I derivati dell'essiccazione del latte e del siero di latte, secondo la tecnologia di produzione, si distinguono in due forme: 1) Spray; 2) Roller o Hatmaker.

La distinzione delle due forme è basata sulle caratteristiche tecnologiche osservabili allo stereomicroscopio.

2.1 Derivati del latte

2.1.1 Latte in polvere

Caratteristiche tecnologiche
1) Latte Spray: polvere fine, soffice, leggera, costituita da microsfere di latte solidificato, talvolta cave (ϕ 50-100 um), con superficie liscia e lucida o leggermente opaca, semitrasparente. Il colore varia da bianco crema nel latte intero o parzialmente scremato a bianco puro nel latte magro.
2). Latte Roller o Hatmaker: prodotto soffice, leggero, costituito da sottili lamine di latte solidificato, di forma irregolare e dimensioni variabili, con superficie rugosa, opaca e bucherellata. Il colore varia da giallino nel latte intero o parzialmente scremato a bianco crema nel latte magro.

Istologia
Microsfere e lamine in acqua si sciolgono lentamente; in dimetilsulfossido o glicerina appaiono grigie, poco trasparenti, e in luce polarizzata mostrano all'interno microcristalli prismatici di lattosio con birifrangenza monocromatica.
Globuli di olio di colore bruno chiaro sono visibili nel latte intero o parzialmente scremato, raramente nel latte magro.

2.2 Derivati del siero

2.2.1 Siero di latte in polvere

Caratteristiche tecnologiche
Il siero Spray e il siero Roller/Hatmaker, di colore generalmente giallino, presentano i medesimi caratteri morfologici dei corrispondenti tipi di latte in polvere. Nella forma Spray sono evi-

denti larghi cristalli di lattosio cuneiformi, incolori e semitrasparenti.
Le polveri di siero sono igroscopiche e, per esposizione all'aria, dopo qualche tempo si compattano formando blocchi induriti.

Istologia
Microsfere e lamine in acqua si sciolgono istantaneamente con effetto di effervescenza; in dimetilsulfossido o glicerina appaiono grigie e opache; in luce polarizzata mostrano all'interno numerosi microcristalli prismatici di lattosio con birifrangenza monocromatica.
Nel siero Spray, anche delattosato, sono evidenti tra le particelle di latte cristalli singoli di lattosio monoidrato: hanno forma di cuneo, possono essere lunghi fino a 100 µm, e sono birifrangenti e fortemente pleocroici, con colori disposti in bande parallele.
Sono assenti nei sieri i globuli di olio.

3 INGREDIENTI DI ORIGINE ANIMALE

I processi di cottura e/o di estrazione di componenti alterano o distruggono la maggior parte delle fini strutture cellulari dei tessuti animali. Il riconoscimento dei derivati è basato: 1) allo stereomicroscopio, sulle caratteristiche di composizione; 2) al microscopio composto sui caratteri strutturali sufficientemente inalterati di alcuni tessuti: fibre muscolari striate, tessuti calcificati, tessuti cornei.

3.1 Derivati di animali terrestri

3.1.1 Farina di carne, Farina di carne e ossa

Composizione
Residui solidi di parti di Mammiferi terrestri cotte, essiccate e macinate, dopo separazione dei grassi e dei liquidi di cottura: polveri, o aggregati di particelle più o meno grossolane, o miscele di entrambe le forme, di colore variabile da bruno scuro nei derivati della cottura a umido a grigio bruno o giallo nei derivati della cottura a secco.
I possibili costituenti sono: muscoli, cartilagini, tendini, ossa, in proporzioni variabili; piccole quantità di sangue, denti, pelle; occasionalmente possono esservi associate tracce di visceri con residui di tessuti vegetali provenienti dal loro contenuto.

Costituenti riconoscibili allo stereomicroscopio
Muscoli: fibre di colore bruno chiaro o scuro, isolate o in grumi o inglobate nei coaguli dei tessuti connettivi
Connettivi: cartilagini e tendini sono fusi e solidificati in particelle di gelatina di colore ambra chiaro o scuro, vitree, dure, lucide, semitrasparenti
Ossa: frammenti duri, spesso grossolani, di colore bianco grigio o bruno chiaro, di forme irregolari, con margini arrotondati e superficie opaca. Mostrano la reazione positiva dei fosfati tribasici
Sangue: particelle irregolari nere, opache (v. anche 3.1.3)
Denti: frammenti irregolari, spigolosi, molto duri, bianchi, opachi o semitrasparenti secondo lo spessore
Peli, setole: sottili cilindri cornei, interi o spezzati o distorti, bianchi o incolori o di varie gradazioni di bruno, con superficie liscia e lucida
Corna e unghie: lamine di colore grigio o nero o ambra, traslucide e dure, a volte con superficie sfaccettata o ondulata. Le particelle di colore ambra sono simili a particelle di gelatina, dalle quali possono essere differenziate per immersione in una

soluzione di acido acetico (1:1): dopo un'ora le particelle di gelatina sono ammorbidite e rigonfie, le particelle cornee restano inalterate
Pelle: strisce dure, arrotolate, di colore bruno. Se provenienti da scarti di conceríe (cuoio), i frammenti hanno superficie colorata e odore forte e penetrante caratteristico
Tessuti vegetali: comprendono parti di piante che hanno resistito all'effetto dei processi digestivi (frammenti anneriti e distorti di steli di erbe, di gusci e bucce di frutti e semi, ecc.)

Istologia
Fibre muscolari: frammenti di fibre di forma cilindrica (ϕ 50-100 µm), incolori o gialline, poco trasparenti, a volte curvate o arrotolate, isolate o in fasci. In alcune la superficie appare liscia, in altre è marcata da sottili striature trasversali chiare e scure alternate, evidenti anche in luce polarizzata per debole birifrangenza (fibre striate). In luce UV, con acido solforico concentrato, sulle particelle dei tessuti muscolari sono evidenziabili residui di sangue in forma di zone fluorescenti rosse sul fondo verde della proteina delle fibre
Gelatina: particelle opache, prive di struttura, isotrope in luce polarizzata
Ossa: particelle irregolari, opache o semitrasparenti secondo lo spessore, con lacune rotonde o ellittiche che appaiono nere sul fondo grigio delle lamine ossee. Nelle particelle più sottili sono visibili sottili linee nere non ramificate, dirette in ogni direzione (canalicoli). In luce polarizzata le particelle ossee mostrano debole birifrangenza
Sangue: v. 3.1.3
Denti: particelle irregolari, opache o trasparenti secondo lo spessore, debolmente birifrangenti. Nelle lamine più sottili talvolta sono visibili i tubuli della dentina in forma di sottili linee scure parallele, leggermente ondulate
Peli e setole: cilindri opachi, incolori o bruni, birifrangenti, di dimensioni variabili, che possono apparire cavi quando è visibile la zona interna midollare. Talvolta sono visibili, sulla superficie esterna, residui delle piccole scaglie embricate della guaina di rivestimento. Il midollo è continuo nei peli dei Mammiferi di grandi dimensioni (bovini, suini, ovini, equini ecc.), settato nei peli dei Roditori
Corna e unghie: lamine di colore grigio o ambra, opache o semitrasparenti, con striature parallele ondulate interrotte da linee di frattura trasversali. Sono birifrangenti con forte pleocroismo
Pelle, cuoio: particelle prive di struttura, isotrope; nei frammenti più trasparenti sono visibili le fibrille del corium, in forma di sottili linee parallele ondulate. Il cuoio idrolizzato è del tutto privo di struttura
Visceri: frammenti trasparenti di mucose, con fibre elastiche e fibre muscolari lisce prive di struttura visibile, talvolta disseminate di nuclei evidenti

Tessuti vegetali: particelle birifrangenti che mostrano, parzialmente alterate, le strutture tipiche dei tessuti vegetali di provenienza

3.1.2 Farine di fegato o di altre ghiandole

Composizione
Prodotti di colore giallo, bruno o bruno scuro, a volte leggermente untuosi, con odore simile a quello della carne. Sono costituiti in parte da polvere granulare, in parte da particelle larghe con superficie bruna più o meno liscia

Istologia
Nessun tessuto caratteristico; talvolta sono visibili cellule ghiandolari larghe, rotonde, spesso distorte, associate a globuli di olio

3.1.3 Farine di sangue

Composizione
1) Sangue secco macinato: particelle irregolari nere, con superficie esterna rugosa e opaca, con superfici di rottura lucide, di colore rosso vino.
2) Sangue spray: polvere fine, soffice e leggera, costituita da microsfere di sangue solidificato, larghe 50-100 μm, spesso cave, di colore rosso mattone scuro, con superficie liscia e lucida, semitrasparente.

Istologia
In acqua particelle e microsfere sono opache, di colore rosso vino, e si sciolgono lentamente con diffusione del colore. Nel liquido di dissoluzione non sono visibili i corpuscoli solidi del sangue
In luce UV, con acido soltorico concentrato, le particelle fluorescono in rosso vivo

3.1.4 Farina di scarti di macellazione del pollame

Composizione
Residuo solido essiccato e macinato della cottura di parti di volatili e/o di volatili interi, simile alla farina di carne, benché più leggero e più soffice e di colore più chiaro.
I possibili costituenti sono: teste, zampe, tessuti muscolari, ossa, visceri, uova non sviluppate, tracce di penne e di gusci di uova.

Costituenti riconoscibili allo stereomicroscopio:
Becchi, unghie: frammenti duri, cornei, bianchi, con superficie perlacea e margini taglienti
Scaglie delle zampe: lamine cornee squamiformi, perlacee e semitrasparenti, con bordi incurvati
Muscoli: fibre di colore crema, isolate o in grumi
Ossa: frammenti duri, irregolari, allungati, di colore crema, bucherellati, con superficie opaca e margini taglienti
Penne/piume: frammenti grossolani di rachidi di forma tubulare appiattita, con bordi seghettati nei punti di inserzione delle barbe spezzate, di colore variabile da bianco ad ambra a bruno scuro; frammenti cilindrici, sottili, di barbe non seghettate; piume ramificate con barbule filiformi disposte a pettine
Gusci di uova: lamine calcaree spesse e leggermente convesse, con superficie bianca opaca, rugosa e bucherellata. Mostrano la reazione positiva dei carbonati e del calcio

Istologia
Becchi, unghie, scaglie: lamine incolori, opache o semitrasparenti, con sottili striature parallele talvolta collegate da linee trasversali
Fibre muscolari: frammenti di fibre striate di forma cilindrica, incolori e semitrasparenti, isolate o in fasci, con striature trasversali spesso evidenti (v. anche Farina di carne 3.1.1)
Ossa: particelle grigie, opache o semitrasparenti, con lacune oblunghe e appiattite (molto numerose nelle ossa delle ali e delle zampe)
Penne e piume: frammenti tubulari di rachidi, opachi, con margini seghettati e zona interna settata; barbe cilindriche semitrasparenti, talvolta con zona interna settata; barbule, isolate o in gruppi, in forma di piccoli tubuli trasparenti inseriti l'uno nell'altro con conformazione a nodi e segmentazioni (a canna di bambù). Taluni frammenti di penne in campo chiaro appaiono simili a fibre muscolari, dalle quali si distinguono per la birifrangenza accentuata e per la colorazione giallo chiaro in soluzione di Lugol; inoltre, in luce UV, con acido solforico concentrato, le penne fluorescono nel verde uniforme delle proteine (cheratina) privo di zone rosse dovute ai residui di sangue sempre evidenziabili nei tessuti muscolari (v. anche Farina di carne)
Visceri: come Farina di carne

3.1.5 Farina di penne idrolizzate

Composizione
Prodotto derivato dalla macinazione della massa fusa ed essiccata delle penne e delle piume dei volatili, al termine del processo di idrolisi delle cheratine: particelle tondeggianti compatte, vitree, molto dure, di colore grigio, bruno o nero, alla superficie delle quali sporgono frammenti di penne non completamente fuse.

Istologia
In acqua, le particelle sono poco trasparenti; con acido solforico concentrato appaiono costituite da grovigli di tubuli arricciati: i grovigli si digregano liberando i singoli costituenti, tra i quali sono riconoscibili le barbule che mantengono inalterata la caratteristica struttura a nodi e segmentazioni. In luce polarizzata, le penne idrolizzate sono isotrope, le penne surriscaldate o carbonizzate appaiono disseminate di numerosi punti luminosi
Nota. Una tecnica di concentrazione facilita il rilevamento delle penne idrolizzate nei mangimi composti.
Sospendere 2 mg di materiale fine in acido solforico all'80%, lasciare in riposo 30 minuti circa, agitando di tanto in tanto. Trasferire su vetrino alcune gocce della sospensione ed esaminare al microscopio a 200-250x: la maggior parte dei tessuti vegetali e quelli animali risulteranno distrutti o distorti, mentre saranno evidenziate le strutture inalterate delle penne

3.2 Derivati di animali marini

3.2.1 Farine di pesce

Composizione
Residui solidi essiccati e macinati di pesci interi e/o di parti di pesci (in prevalenza Teleostei a scheletro osseo, in misura minore Elasmobranchi a scheletro cartilagineo), cotti e più o meno privati dell'olio: polveri fini, o aggregati di particelle grossolane, o miscele di entrambe le forme, di colore variabile da giallo a bruno a bruno scuro, con odore forte e penetrante di pesce e a volte con aspetto untuoso.
I possibili costituenti sono: per la maggior parte tessuti muscolari, ossa, scaglie, pelle; piccole quantità di altre parti dei pesci (denti, occhi, uova ecc.).

Costituenti riconoscibili allo stereomicroscopio
Muscoli: fibre sottili, chiare, semitrasparenti, isolate o in fasci, o inglobate nei coaguli dei tessuti connettivi che, sciolti durante i processi di cottura, agiscono come collante per formare conglomerati di particelle degli altri tessuti
Ossa: frammenti irregolari, alcuni allungati e appuntiti, altri leggermente arrotondati, opachi, bianchi o grigi; piccole vertebre isolate, generalmente intere
Ossa cartilaginee: frammenti piatti di colore bianco latte, a volte con sfumature azzurre o con aspetto perlaceo, semitrasparenti, con superficie liscia e lucida

Scaglie: corpi di natura connettivale, molto variabili per quantità, forma, dimensioni e struttura. Nei Teleostei: lamine piatte o leggermente arrotolate, alcune di forma circolare (tipo cicloide), altre con un margine dentellato (tipo ctenoide); sono marcate da strie concentriche di accrescimento e sono argentate o iridescenti per il contenuto in cristalli di guanina. Negli Elasmobranchi: dentelli cutanei con una estremità appuntita e l'altra rombica (tipo placoide)
Occhi: sferette bianche opache, formate da sottili strati lamellari, spesso staccati e frantumati, che avvolgono il cristallino sferico, duro e vitreo, leggermente ruvido
Uova: sferette di dimensioni variabili, con superficie bruna rugosa, isolate o in gruppi

Istologia
Fibre muscolari: frammenti di fibre striate cilindriche, spesso incurvate, incolori e trasparenti (di diametro maggiore che nella carne), con fini striature trasversali birifrangenti quasi sempre visibili
Ossa: particelle irregolari grigie, opache o semitrasparenti secondo lo spessore. In alcuni gruppi di Pesci sono presenti lacune e canalicoli: le lacune, che appaiono nere sul fondo grigio delle lamine ossee, possono essere fusiformi (es. aringa, acciuga) o filiformi (es. tonno); i canalicoli sono sottili linee nere ondulate e, a differenza che nei Mammiferi, ramificate. In altri gruppi (es. merluzzo) le lacune sono assenti e sono visibili soltanto leggere striature parallele ramificate (fibre di Sharpey, peraltro sempre presenti nelle ossa dei Pesci)
Ossa cartilaginee: particelle irregolari, opache, disseminate di minute lacune globulari o compresse, prive di canalicoli. In alcune specie (es. squalo, palombo) la superficie delle ossa appare formata da piastre poligonali calcificate
Scaglie: nei Teleostei appaiono come lamine trasparenti, riconoscibili, sia intere che in piccoli frammenti, dalla struttura a bande concentriche alternate chiare e scure, dovute alla forte calcificazione con disposizione ad anelli dello strato superficiale; in alcune specie (es. aringa) gli anelli mostrano andamento curvilineo con effetto di piccole placche arrotondate embricate. Negli Elasmobranchi (es. squalo) le scaglie sono trasparenti e appaiono formate da un corpo conico che si prolunga in una piastra basale larga, generalmente rombica
Pelle: frammenti sottili e trasparenti, privi di struttura, talvolta disseminati di corpi pigmentati neri, di forma stellata (melanofori)
Denti: corpi conici con base larga arrotondata; nei frammenti più trasparenti sono visibili i tubuli della dentina in forma di sottili linee parallele
Otoliti: lamine dell'orecchio a struttura cristallina, birifrangenti, marcate da larghe bande di accrescimento chiare e scure alternate dovute a concrezioni calcaree di cristalli di carbonato di calcio aggregati in strati concentrici

Guanina: contenuta nella pelle e nelle scaglie in microcristalli aghiformi, che nei derivati sono frantumati in polvere fine, fortemente birifrangente, disseminata su tutti i tessuti

3.2.2 Farine di fegati di pesce

Composizione
Polveri di colore bruno chiaro, con odore caratteristico di fegato di merluzzo.

Istologia
Nessun tessuto caratteristico. La struttura ghiandolare è distorta; talvolta sono visibili cellule poligonali di dimensioni uniformi associate a globuli di olio

3.2.3 Solubili di pesce

Composizione
Derivati dalla condensazione o essiccazione dei liquidi residui della cottura dei pesci dopo filtrazione dei materiali solidi e separazione dell'olio: sciroppi o polveri di colore bruno scuro, con odore di pesce forte e penetrante.

Istologia
Sia gli sciroppi che le polveri contengono elevate quantità di guanina polverizzata e minuti frammenti residui di ossa/scaglie, sufficienti per il riconoscimento

3.2.4 Concentrati proteici di pesce

Composizione
Derivati dalla condensazione o essiccazione dei liquidi derivati dai processi di estrazione delle proteine totali dei pesci: sciroppi o polveri di colore bruno o bruno scuro, con odore di pesce forte e penetrante.

Istologia
V. Solubili di pesce (3.2.3)

3.2.5 Farina di gamberi

Composizione
Residui essiccati e macinati della lavorazione dei gamberi. Sono caratterizzati da frammenti laminari di esoscheletro chitinoso in parte calcificato, sottili, traslucidi, di colore rosso o grigio, e da frammenti di antenne tubulari segmentate.

Istologia
Esoscheletro: particelle lamellari di chitina rosse o grigie, marcate da striature nere parallele, unite a intervalli da linee trasversali; in alcune sono visibili concrezioni calcaree sferoidali o piatte a forma di croce o di rosetta, fortemente birifrangenti sul fondo isotropo della chitina
Antenne: frammenti tubulari di tessuto sottile con strutture a pettine
Altri tessuti: talvolta sono visibili cellule rettangolari, di colore ambra, degli occhi composti

3.2.6 Farina di granchi

Composizione
Residui essiccati e macinati della lavorazione dei granchi. Sono caratterizzati da frammenti di esoscheletro chitinoso, in parte calcificato, e contengono visceri e parte della polpa.
I frammenti di esoscheletro sono irregolari, di colore da avorio a rosso bruno; hanno tessitura lamellare, con spessore e durezza variabili secondo le quantità di calcare depositato fra le lamelle di chitina. Gli strati lamellari sono talvolta separati in forma di sottili lamine arrotolate, alcune di colore bruno, altre incolori e trasparenti (con aspetto simile a quello di crusche di cereali).
Gli altri tessuti, fragili, semitrasparenti, di colore da ambra a rosso, sono polverizzati.

Istologia
Esoscheletro: particelle irregolari di chitina opache o semitrasparenti, secondo lo spessore; quelle provenienti dalla superficie esterna sono punteggiate da larghi pori esagonali disposti a nido d'ape, visibili nei frammenti più sottili. Le lamelle isolate di chitina, di colore giallino o grigio, sono trasparenti con leggere striature chiare e scure alternate (simili a quelle delle scaglie di pesce); in luce polarizzata le striature scure, dovute ai depositi di calcare, sono birifrangenti sul fondo isotropo della chitina
Altri tessuti: frammenti di fibre muscolari striate, simili a quelle dei Pesci

4 PRODOTTI INORGANICI

Sono riconoscibili visivamente alcuni prodotti minerali naturali macinati e alcuni sali inorganici non macinati. L'identificazione visiva può essere confermata con i saggi microchimici indicati nella Parte I, par. 10.5.

4.1 Prodotti minerali naturali

4.1.1 Farina di ossa degelatinizzate

Particelle fini bianche o grigie, dure, sfrangiate, spugnose, con superfici di rottura opache. Al microscopio composto mostrano la struttura lacunare del tessuto osseo dei Mammiferi (v. 3.1.1).

4.1.2 Rocce calciche macinate

Aggregati di fini cristalli, interi o frantumati, di carbonati prevalentemente di calcio, di varie forme e dimensioni, incolori o bianchi o variamente colorati, birifrangenti.

4.1.3 Rocce calciche granulate

Granuli irregolari, spigolosi, di varie dimensioni secondo il tipo di granulazione, di colore bianco opaco o grigio, duri e compatti, con superfici di rottura rugose e lucenti e con struttura cristallina birifrangente.

4.1.4 Conchiglie macinate

Frammenti durissimi di varie forme e colori: quelli provenienti da conchiglie di ostriche sono spessi e hanno superficie esterna rugosa, opaca, di colore giallo-bruno, e superficie interna liscia, iridescente; quelli di altri Molluschi sono sottili, alcuni piatti, altri convessi, altri con tracce degli avvolgimenti a spirale o della forma conica delle conchiglie originarie, e hanno superficie esterna bianca o variamente colorata, liscia oppure marcata da coste, sculture o disegni, e superficie interna bianca, liscia.

4.1.5 Alghe marine calcaree granulate o macinate

Granuli friabili, o polvere fine, secondo la tecnologia di preparazione, di colore bianco o grigio.

Dopo lavaggio in acido cloridrico (1:1), sono visibili al microscopio composto le forme ramificate del tallo delle alghe Corallinacee spesso associate a microconchiglie sferiche, uni o pluriloculari, di Molluschi Foraminiferi.

4.1.6 Sabbia

Frammenti irregolari, durissimi, di varie dimensioni e colori.
Al microscopio composto mostrano struttura cristallina birifrangente.

4.1.7 Farine fossili

Polveri finissime grigie, non differenziate.
Al microscopio composto sono visibili minuti frammenti degli scheletri silicei delle alghe Diatomee fossili, con caratteristiche forme, punteggiature e disegni vari.

4.2 Sali minerali

4.2.1 Carbonato di calcio precipipato

Cristallini esagonali, talvolta incolori e trasparenti, talvolta colorati e opachi, birifrangenti.

4.2.2 Cloruro di sodio

Forme possibili: 1) cristalli cubici, giallastri o incolori secondo il grado di purezza; 2) polvere cristallina bianca, non differenziata.
Entrambe le forme sono isotrope.

4.2.3 Solfato di magnesio (eptaidrato)

Forme possibili: 1) cristalli allungati (rombici o monoclini) in forme prismatico-piramidali, incolori o bianchi, semitrasparenti; 2) polvere cristallina bianca costituita da microcristalli aghiformi.
Entrambe le forme sono birifrangenti.

4.2.4 Solfato di rame (pentaidrato)

Cristalli triclini di forma prismatica, azzurri, trasparenti, riconoscibili per il colore anche se in rari e/o minuti frammenti.
Birifrangenti.

5 COMPOSTI ORGANICI

Sono riconoscibili visivamente rari prodotti cristallini di natura organica. L'identificazione visiva deve essere preferibilmente confermata con i saggi microchimici indicati nella Parte I, par. 10.6.

5.1 Composti azotati

5.1.1 Aminoacidi

5.1.1.1 dl-Metionina

Lamine monoclini, bianche e lucide, spesso aggregate in gruppi squamosi. Sono fortemente birifrangenti e pleocroiche, con peculiari effetti di variegature.

5.1.1.2 l-Lisina

Microcristalli aghiformi incolori, birifrangenti.

5.1.1.3 L-Cistina

Lamine o prismi esagonali incolori, birifrangenti e pleocroici.

5.1.2 Urea

Cristallini aghiformi, incolori, trasparenti e lucidi, isolati oppure aggregati in sferette. I singoli cristalli sono birifrangenti e pleocroici.

5.2 Zuccheri

5.2.1 Glucosio (monoidrato)

Cristalli laminari, incolori e trasparenti, con forma esagonale allungata più o meno regolare secondo il grado di perfezione, spesso aggregati in gruppi di cristalli intercresciuti o in masse parzialmente fuse. Birifrangenti.

5.2.2 Lattosio

Forme possibili: 1) piccoli cristalli prismatici; 2) larghi cristalli cuneiformi.
Entrambe le forme mostrano birifrangenza, la prima monocromatica, la seconda pleocroica, con colori disposti in bande parallele.

5.2.3 Saccarosio

Cristalli incolori o giallini, semitrasparenti, con forme pseudocubiche. Sono birifrangenti e pleocroici, con colori disposti in bande parallele.

5.3 Vitamine

5.3.1 Preparati di Vitamina A

Microsfere larghe da 20 a 500 µm, di colore giallo o bruno, con superficie rugosa. Sono costituite da gelatina, a volte mista ad amidi, acidi grassi o zuccheri, inglobanti la vitamina A liquida o in microcristalli prismatici giallini, birifrangenti.

5.3.2 Vitamina B1

Piccole lamine incolori di forme irregolari, birifrangenti e pleocroiche.

5.3.3 Vitamina C

Forme possibili: 1) lamine incolori, spesso frantumate; 2) microcristalli aghiformi bianchi o giallini.
Entrambe le forme sono birifrangenti.

5.4 Estrogeni

5.4.1 4-metiltiouracile

Cristallini aghiformi o prismatici di colore giallino, aggregati in gruppi irregolari o in complessi tabulari. I singoli cristalli sono fortemente birifrangenti e pleocroici.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

(1) - Repubblica Italiana. L. 15.2.63 n. 281, modificata dalla L. 8.3.68 n. 399 e dal D.P.R. 31.3.88 n. 152
(2) - Comunità Economica Europea. Direttiva n. 79/373 modificata dalla Direttiva n. 90/654; Direttiva n. 92/57
(3) - Anonimo, 1970. Metodi Ufficiali di analisi degli alimenti di uso zootecnico. Parte II. Ministero Agricoltura e Foreste, Roma
(4) - Anonimo (s.d.). Manual of microscopic analysis of feeding stuffs. Amer. Assoc. Feed Microscopists (A.A.F.M.) (s.l.)
(5) - Bechtel D.B. (Ed.), 1982. New frontiers in food microstructure. Amer.Assoc. Cereal Chemists, St Paul, Minnesota
(6) - Cantoni I., Dragoni C., 1987. Muffe e alimenti. CLESAV, Milano
(7) - Chamot E.M., Mason C.W., 1940-1958. Handbook of chemical microscopy, Vol.I (3th edn.1958) - Vol.II (2nd edn. 1940), Wiley & Sons, N.York
(8) - Clark G. (Ed.), 1981. Staining procedures. 4th edn. Williams/Wilkins, Baltimore, MD
(9) - Collin E., Perrot E., 1904. Les résidus industriels utilisés par l'agriculture. Joanin, Paris
(10) - Domenichini G. (a cura di), 1984. Impurità solide negli alimenti. Chiriotti, Pinerolo
(11) - Feigl F., 1966. Spot test in organic analysis. 7th edn. Elsevier, Amsterdam
(12) - Gassner G. et al., 1989. Mikroskopische Untersuchung pflanzicher Lebensmittel - 6 Aufl. Fischer, Stuttgart
(13) - Huss W., 1976. Microscopy and quality control in the manufacture of animal feeds. Hoffman-LaRoche, Basel
(14) - Juillet A. et al., 1955. Les oléagineux et leur tourteaux. Encycl. Biol., Tome XLIX, Le Chevalier, Paris
(15) - Liener I.E., 1980. Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic Press, N.York
(16) - Mc Crone W. et al., 1978. Polarized light microscopy. Ann Arbor Science Publ., Ann Arbor, Michigan
(17) - Mc Cullogh C. S., 1979. Handbook of feed microscopy (revised by Chang V.W. and Fedyk S.). Agriculture Canada, Lab. Serv. Division, Ottawa
(18) - Radley J.A. (ed.), 1976. Examination and analysis of starch and starch products. Applied Sci. Publ., London
(19) - Ramsey P., 1983. Ergot spot test. Off. Proc. 31th Ann.Meet. A.A.F.M., Harrisburg, Penn.
(20) - Storto T., Tomaso E., 1976. Prodotti di origine minerale e chimico-industriali per l'alimentazione degli animali. Assoc. Naz. Produttori Alim. Zoot., Roma
(21) - Storto T., Tomaso E., 1987. Sostanze e prodotti indesiderabili negli alimenti zootecnici. Assoc.Naz. Produttori Alim. Zoot., Roma

(22) Tonzig S., 1979. Elementi di botanica, vol. II. Ed. Ambrosiana, Milano
(23) - Vaughan J.G., 1970. The structure and utilization of oil seeds. Chapman/Hall, London
(24) - Vaughan J.G., 1979. Food microscopy. Academic Press, N.York
(25) - Verona P.G., 1984. Piante tossiche o dannose agli animali. Edagricole, Bologna
(26) - Winton A.L., Winton K.B., 1932-1935. Structure and composition of foods. Vol. I-II. Wiley & Sons, N.York
(27) - Wright P.S., 1965. Fertilizer microscopy. Florida Dept. of Agriculture

94A3355

FRANCESCO NIGRO, *direttore*

FRANCESCO NOCITA, *redattore*
ALFONSO ANDRIANI, *vice direttore*

(6651396) Roma - Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - S.

ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO

LIBRERIE DEPOSITARIE PRESSO LE QUALI È IN VENDITA LA GAZZETTA UFFICIALE

ABRUZZO

◇ **L'AQUILA**
LIBRERIA LA LUNA DI FREEBOOK
Viale Persichetti, 9/A

◇ **CHIETI**
LIBRERIA PIROLA MAGGIOLI
Via A. Herio, 21

◇ **LANCIANO**
LITOLIBROCARTA
Via Renzetti, 8/10/12

◇ **PESCARA**
COSTANTINI DIDATTICA
Corso V. Emanuele, 146

BASILICATA

◇ **POTENZA**
LIBRERIA PAGGI ROSA
Via Pretoria

CALABRIA

◇ **CATANZARO**
LIBRERIA NISTICÒ
Via M. Greco, 99

◇ **COSENZA**
LIBRERIA DOMUS
Via Monte Santo, 51/53

CAMPANIA

◇ **ANGRI (Salerno)**
CARTOLIBRERIA AMATO ANTONIO
Via dei Goti, 4

◇ **AVELLINO**
LIBRERIA GUIDA 3 S.r.l.
Via Vasto, 15

◇ **BENEVENTO**
LIBRERIA LA GIUDIZIARIA
Via F. Paga, 11
LIBRERIA MASONE NICOLA
Viale dei Rettori, 71

◇ **CASERTA**
LIBRERIA GUIDA 3 S.R.L.
Via Caduti sul Lavoro, 29/33

◇ **ISCHIA PORTO**
LIBRERIA GUIDA 3 S.R.L.
Via Sogliuzzo

◇ **NAPOLI**
L'ATENEO di Dario Pironti & C.
Viale Augusto, 168/170
LIBRERIA GUIDA 1 S.R.L.
Via Portalba, 20/23
LIBRERIA GUIDA 2 S.R.L.
Via Merliani, 118
LIBRERIA LEGISLATIVA MAJOLO
Via Caravita, 30
LIBRERIA TRAMA G.
Piazza Cavour, 75

◇ **SALERNO**
LIBRERIA GUIDA S.R.L.
Corso Garibaldi, 142

EMILIA-ROMAGNA

◇ **BOLOGNA**
LIBRERIA GIURIDICA CERUTI
Piazza Tribunali, 5/F
LIBRERIA PIROLA MAGGIOLI
Via Castiglione, 1/C

◇ **CARPI**
LIBRERIA R. & G. BULGARELLI
Corso S. Cabassi, 15

◇ **CESENA**
LIBRERIA BETTINI
Via Vescovado, 5

◇ **FORLÌ**
LIBRERIA MODERNA
Corso A. Diaz, 2/F

◇ **MODENA**
LIBRERIA LA GOLIARDICA
Via Emilia Centro, 210

◇ **PIACENZA**
NUOVA TIPOGRAFIA DEL MAINO
Via IV Novembre, 160

◇ **REGGIO EMILIA**
LIBRERIA MODERNA
Via Farini, 1/M

◇ **RIMINI (Forlì)**
LIBRERIA DEL PROFESSIONISTA
Via XXII Giugno, 3

FRIULI-VENEZIA GIULIA

◇ **PORDENONE**
LIBRERIA MINERVA
Piazza XX Settembre, 22/A

◇ **TRIESTE**
LIBRERIA EDIZIONI LINT TRIESTE S.r.l.
Via Romagna, 30

LAZIO

◇ **LATINA**
LIBRERIA GIURIDICA LA FORENSE
Via dello Statuto, 28/30

◇ **RIETI**
LIBRERIA LA CENTRALE
Piazza V. Emanuele, 8

◇ **ROMA**
DE MIRANDA MARIA PIA
Viale G. Cesare, 51/E-F-G
LIBRERIA GABRIELE MARIA GRAZIA
c/o Pretura Civile, piazzale Clodio
LIBRERIA IL TRITONE S.R.L.
Via Tritone, 61/A

◇ **SORA (Frosinone)**
LIBRERIA PIROLA MAGGIOLI
Via Abruzzo, 4

◇ **VITERBO**
LIBRERIA DE SANTIS MARIA
Via Venezia Giulia, 5
LIBRERIA "AR" di MASSI ROSSANA e C.
Palazzo Uffici Finanziari
Località Pietrare

LIGURIA

◇ **CHIAVARI**
CARTOLERIA GIORGINI
Piazza N.S. dell'Orto, 37/38

◇ **GENOVA**
LIBRERIA GIURIDICA di M. SERENA BALDARO e C.
Via XII Ottobre, 172/R

◇ **LA SPEZIA**
CARTOLIBRERIA CENTRALE
Via Colli, 5

LOMBARDIA

◇ **BERGAMO**
LIBRERIA ANTICA E MODERNA A. LORENZELLI
Viale Giovanni XXIII, 74

◇ **COMO**
LIBRERIA GIURIDICA BERNASCONI DECA S.r.l.
Via Mentana, 15
NANI LIBRI E CARTE
Via Cairoli, 14

◇ **CREMONA**
LIBRERIA DEL CONVEGNO
Corso Campi, 72

◇ **GALLARATE**
LIBRERIA PIROLA MAGGIOLI
Piazza Risorgimento, 10

◇ **LECCO**
LIBRERIA PIROLA MAGGIOLI
Corso Mart. Liberazione, 100/A

◇ **MILANO**
LIBRERIA CONCESSIONARIA IPZS-CALABRESE
Galleria V. Emanuele, 11-15

◇ **MONZA**
LIBRERIA DELL'ARENGARIO S.R.L.
Via Mapelli, 4

◇ **MANTOVA**
LIBRERIA ADAMO DI PELLEGRINI
Corso Umberto I, 32

◇ **VARESE**
LIBRERIA PIROLA
Via Albuzzi, 8

MARCHE

◇ **ANCONA**
LIBRERIA FOGOLA
Piazza Cavour, 4/5/6

◇ **ASCOLI PICENO**
LIBRERIA PROSPERI
Largo Crivelli, 8

◇ **PESARO**
LIBRERIA PROFESSIONALE MARCHIGIANA
Via Mameli, 34

◇ **S. BENEDETTO DEL TRONTO**
LA BIBLIOFILA
Viale De Gasperi, 22

MOLISE

◇ **CAMPOBASSO**
CENTRO LIBRARIO MOLISANO
Viale Manzoni, 81/83
LIBRERIA GIURIDICA DI.E.M.
Via Capriglione, 42-44

PIEMONTE

◇ **ALESSANDRIA**
LIBRERIA INT.LE BERTOLOTTI
Corso Roma, 122
LIBRERIA INT.LE BOFFI
Via dei Martiri, 31

◇ **ALBA (Cuneo)**
CASA EDITRICE ICAP
Via Vittorio Emanuele, 19

◇ **BIELLA (Vercelli)**
LIBRERIA GIOVANNACCI
Via Italia, 14

◇ **CUNEO**
CASA EDITRICE ICAP
Piazza dei Galimberti, 10

◇ **TORINO**
CASA EDITRICE ICAP
Via Monte di Pietà, 20

PUGLIA

◇ **ALTAMURA (Bari)**
LIBRERIA JOLLY CART
Corso V. Emanuele, 16

◇ **BARI**
CARTOLIBRERIA QUINTILIANO
Via Arcidiacono Giovanni, 9
LIBRERIA PALOMAR
Via P. Amedeo, 176/B

◇ **BRINDISI**
LIBRERIA CRISTINA PIAZZO
Piazza Vittoria, 4

◇ **CERIGNOLA**
VASCIAVEO ORGANIZZ. COMMERC.
Via Gubbio, 14

◇ **MOLFETTA (Bari)**
LIBRERIA IL GHIGNO
Via Campanella, 24

SARDEGNA

◇ **CAGLIARI**
LIBRERIA F.LLI DESSÌ DI MARIO
Corso V. Emanuele, 30/32

◇ **ORISTANO**
LIBRERIA MARIO CANU
Corso Umberto I, 19

◇ **SASSARI**
LIBRERIA AKA
Via Mazzini, 2/E
LIBRERIA MESSAGGERIE SARDE
Via Roma, 137

SICILIA

◇ **ACIREALE**
CARTOLIBRERIA BONANNO MAURO
Via Vitt. Emanuele, 194

◇ **CATANIA**
LIBRERIA LA PAGLIA
Via Etnea, 393
LIBRERIA S.G.C.
Via F. Riso, 56

◇ **GIARRE**
LIBRERIA LA SENORITA
Corso Italia, 132/134

◇ **MESSINA**
LIBRERIA PIROLA MESSINA
Corso Cavour, 55

◇ **PALERMO**
CARTOLIBRERIA EUROPA
Via Sciuti, 66
CICALA INGUAGGIATO G.
Via Villaermosa, 28
LIBRERIA FORENSE
Via Maqueda, 185
LIBRERIA S.F. FLACCOVIO
Piazza V. E. Orlando, 15/19
LIBRERIA S.F. FLACCOVIO
Via Ruggero Settimo, 37

◇ **TRAPANI**
LIBRERIA LO BUE GIUSEPPE
Via Cascio Cortese, 8

TOSCANA

◇ **FIRENZE**
LIBRERIA ALFANI EDITRICE
Via Alfani, 84/86 R
LIBRERIA MARZOCCO DELLA G.P.L.
Via de' Martelli, 22 R
LIBRERIA PIROLA già ETRURIA
Via Cavour, 46 R

◇ **GROSSETO**
LIBRERIA SIGNORELLI
Corso Carducci, 9

◇ **LIVORNO**
LIBRERIA AMEDEO NUOVA
Corso Amedeo, 23/27
LIBRERIA PIROLA MAGGIOLI IL PENTAFOGLIO
Via Fiorenza, 4/B

◇ **MASSA**
LIBRERIA IL MAGGIOLINO
Via S. Pietro, 1

◇ **PISA**
LIBRERIA VALLERINI ANDREA
Via dei Mille, 13

◇ **PRATO**
LIBRERIA CARTOLERIA GORI
Via Ricasoli, 25

◇ **VIAREGGIO**
LIBRERIA IL MAGGIOLINO
Via Puccini, 38

TRENTINO-ALTO ADIGE

◇ **TRENTO**
LIBRERIA DISERTORI
Via Diaz, 11

UMBRIA

◇ **FOLIGNO (Perugia)**
LIBRERIA LUNA di VERRI e BIBI
Via Gramsci, 41

◇ **TERNI**
LIBRERIA ALTEROCCA
Corso Tacito, 29

VENETO

◇ **CONEGLIANO**
LIBRERIA CARTOLERIA CANOVA
Corso Mazzini, 7

◇ **PADOVA**
IL LIBRACCIO
Via Portello, 42

◇ **ROVIGO**
CARTOLIBR. PAVANELLO CARLO
Piazza V. Emanuele, 2

◇ **TREVISO**
CANOVA SOCIETÀ CARTOLIBRERIA EDITRICE A R.L.
Via Calmaggiore, 31
LIBRERIA BELLUCCI BENITO
Viale Monfenera, 22/A

◇ **VERONA**
LIBRERIA L.E.G.I.S.
Via Adigetto, 43

MODALITÀ PER LA VENDITA

La «Gazzetta Ufficiale» e tutte le altre pubblicazioni ufficiali sono in vendita al pubblico:
- **presso l'Agenzia dell'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato in ROMA, piazza G. Verdi, 10;**
- **presso le Concessionarie speciali di:**
  BARI, Libreria Laterza S.p.a., via Sparano, 134 - BOLOGNA, Libreria Ceruti, piazza dei Tribunali, 5/F - FIRENZE, Libreria Pirola (Etruria S.a.s.), via Cavour, 46/r - GENOVA, Libreria Baldaro, via XII Ottobre, 172/r - MILANO, Libreria concessionaria «Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato» S.r.l., Galleria Vittorio Emanuele, 3 - NAPOLI, Libreria Italiana, via Chiaia, 5 - PALERMO, Libreria Flaccovio SF, via Ruggero Settimo, 37 - ROMA, Libreria Il Tritone, via del Tritone, 61/A - TORINO, Cartiere Miliani Fabriano - S.p.a., via Cavour, 17;
- **presso le Librerie depositarie indicate nella pagina precedente.**

Le richieste per corrispondenza devono essere inviate all'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - Direzione Marketing e Commerciale - Piazza G. Verdi, 10 - 00100 Roma, versando l'importo, maggiorato delle spese di spedizione, a mezzo del c/c postale n. 387001. Le inserzioni, come da norme riportate nella testata della parte seconda, si ricevono in Roma (Ufficio inserzioni - Piazza G. Verdi, 10). Le suddette librerie concessionarie speciali possono accettare solamente gli avvisi consegnati a mano e accompagnati dal relativo importo.

PREZZI E CONDIZIONI DI ABBONAMENTO - 1994

Gli abbonamenti annuali hanno decorrenza dal 1° gennaio al 31 dicembre 1994
i semestrali dal 1° gennaio al 30 giugno 1994 e dal 1° luglio al 31 dicembre 1994

ALLA PARTE PRIMA - LEGISLATIVA

Ogni tipo di abbonamento comprende gli indici mensili

Tipo A - Abbonamento ai fascicoli della serie generale, inclusi i supplementi ordinari

- annuale	L.	357.000
- semestrale	L.	195.500

Tipo B - Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata agli atti dei giudizi davanti alla Corte costituzionale

- annuale	L.	65.500
- semestrale	L.	46.000

Tipo C - Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata agli atti delle Comunità europee

- annuale	L.	200.000
- semestrale	L.	109.000

Tipo D - Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata alle leggi ed ai regolamenti regionali:

- annuale	L.	65.000
- semestrale	L.	45.500

Tipo E - Abbonamento ai fascicoli della serie speciale destinata ai concorsi indetti dallo Stato e dalle altre pubbliche amministrazioni

- annuale	L.	199.500
- semestrale	L.	108.500

Tipo F - Abbonamento ai fascicoli della serie generale, inclusi i supplementi ordinari, ed ai fascicoli delle quattro serie speciali

- annuale	L.	687.000
- semestrale	L.	379.000

Integrando il versamento relativo al tipo di abbonamento della Gazzetta Ufficiale, *parte prima, prescelto con la somma di* **L. 98.000,** *si avrà diritto a ricevere l'indice repertorio annuale cronologico per materie 1994.*

Prezzo di vendita di un fascicolo della *serie generale*	L.	1.300
Prezzo di vendita di un fascicolo delle *serie speciali I, II e III,* ogni 16 pagine o frazione	L.	1.300
Prezzo di vendita di un fascicolo della *IV serie speciale «Concorsi ed esami»*	L.	2.550
Prezzo di vendita di un fascicolo *indici mensili,* ogni 16 pagine o frazione	L.	1.300
Supplementi ordinari per la vendita a fascicoli separati, ogni 16 pagine o frazione	L.	1.400
Supplementi straordinari per la vendita a fascicoli separati, ogni 16 pagine o frazione	L.	1.400

Supplemento straordinario «Bollettino delle estrazioni»

Abbonamento annuale	L.	124.000
Prezzo di vendita di un fascicolo ogni 16 pagine o frazione	L.	1.400

Supplemento straordinario «Conto riassuntivo del Tesoro»

Abbonamento annuale	L.	81.000
Prezzo di vendita di un fascicolo	L.	7.350

Gazzetta Ufficiale su MICROFICHES - 1994
(Serie generale - Supplementi ordinari - Serie speciali)

Abbonamento annuo mediante 52 spedizioni settimanali raccomandate	L.	1.300.000
Vendita singola per ogni microfiches fino a 96 pagine cadauna	L.	1.500
per ogni 96 pagine successive	L.	1.500
Spese per imballaggio e spedizione raccomandata	L.	4.000

N.B. — Le microfiches sono disponibili dal 1° gennaio 1983 — Per l'estero i suddetti prezzi sono aumentati del 30%

ALLA PARTE SECONDA - INSERZIONI

Abbonamento annuale	L.	336.000
Abbonamento semestrale	L.	205.000
Prezzo di vendita di un fascicolo, ogni 16 pagine o frazione	L.	1.450

I prezzi di vendita, in abbonamento ed a fascicoli separati, per l'estero, nonché quelli di vendita dei fascicoli delle annate arretrate, compresi i fascicoli dei supplementi ordinari e straordinari, sono raddoppiati.

L'importo degli abbonamenti deve essere versato sul c/c postale n. 387001 intestato all'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato. L'invio dei fascicoli disguidati, che devono essere richiesti all'Amministrazione entro 30 giorni dalla data di pubblicazione, è subordinato alla trasmissione di una fascetta del relativo abbonamento.

Per informazioni o prenotazioni rivolgersi all'Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - Piazza G. Verdi, 10 - 00100 ROMA
abbonamenti ☎ (06) 85082149/85082221 - vendita pubblicazioni ☎ (06) 85082150/85082276 - inserzioni ☎ (06) 85082145/85082189

L. 11.200